

## Passaggio di Corpi Figurati fra Cellule del Tappeto e Cellula Centrale Nell'Archeonio dei Pini

Eleonora Francini Corti & Elena Maugini

To cite this article: Eleonora Francini Corti & Elena Maugini (1964) Passaggio di Corpi Figurati fra Cellule del Tappeto e Cellula Centrale Nell'Archeonio dei Pini, *Caryologia*, 17:1, 1-39, DOI: [10.1080/00087114.1964.10796114](https://doi.org/10.1080/00087114.1964.10796114)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/00087114.1964.10796114>



Published online: 29 Jan 2014.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 41



View related articles [↗](#)

PASSAGGIO DI CORPI FIGURATI FRA CELLULE DEL TAPPETO  
E CELLULA CENTRALE NELL'ARCHEGONIO DEI PINI

ELEONORA FRANCCINI CORTI e ELENA MAUGINI

Istituto Botanico dell'Università di Firenze

In Redazione: il 10 Marzo 1964\*

INTRODUZIONE

È generalmente ammesso che il tappeto dell'archegonio (*archegonial jacket* or *sheath*, *archegonial tapetum*, *cellules folliculeuse*, *Deckschicht*), carattere generale delle Gimnosperme (1), debba avere una funzione connessa con il vistosissimo accrescimento della cellula centrale dell'archegonio, destinata a trasformarsi in oosfera (2). Ma in che cosa consista essenzialmente la funzione di queste cellule in confronto a quella delle vicine cellule del gametofito femminile (*endosperma primario*, *protallo*) non è affatto conosciuto, e non è neppure stabilito in che modo le sostanze fornite dal tappeto passino nella cellula centrale. Non si è, cioè, chiarito se si tratta sempre di un filtraggio di sostanze fluide o semi-fluide attraverso le zone più sottili della parete di separazione, oppure se si verifica anche un passaggio di materiale solido ed in special modo di nuclei, attraverso a soluzioni di continuità di detta parete. Questa ultima questione è stata molto dibattuta nella letteratura ed è appunto questa che noi abbiamo ripresa in considerazione, scegliendo come materiale gli archegoni di *Pinus pinea* L., il comune pino da pinoli.

Avanti di riportare i nostri dati di osservazione, crediamo opportuno rias-

\* Le micrografie elettroniche sono state eseguite nel Centro Universitario di Microscopia Elettronica di Firenze.

(1) È stato segnalato che in *Sequoia sempervirens* (ARNOLDI 1899, LAWSON 1904, BUCHHOLZ 1939b) ed in *S. gigantea* (BUCHHOLZ 1939a) le cellule del tappeto non formano uno strato continuo, ma sono distribuite isolatamente o in piccoli gruppi in maniera molto irregolare fra gli archegoni. In *Welwitschia mirabilis* il tappeto archegoniale manca del tutto (cfr. ARNOLDI 1899).

(2) Il nucleo della cellula centrale, alla fine del periodo di accrescimento, subisce una cariocinesi, e si forma verso il collo dell'archegonio la cellula del ventre. Da allora la cellula centrale viene considerata come oosfera, cioè come gamete femminile atto ad essere fecondato.

sumere per sommi capi la letteratura più interessante in proposito, che è per gran parte della fine del secolo scorso e dei primi del '900.

Le cellule del tappeto archegoniale non solo sono ordinate in una fila regolare, ma hanno caratteristiche tali da farle subito distinguere da quelle del rimanente gametofito femminile. Hanno nuclei più grandi con grandi nucleoli, citoplasma molto più denso e granuloso, privo di vacuoli, e la parete che le separa dalla cellula centrale si presenta fortemente ispessita. Questo ispessimento, prospiciente la cellula centrale ed interrotto da punteggiature in corrispondenza delle quali la parete rimane sottile, ha molto precocemente attirato l'attenzione degli studiosi. Già GOTTSCHÉ nel 1844 l'aveva notato in alcune Cicadee; HOFMEISTER nel 1851 nelle Conifere e specialmente in *Pinus canadensis*; WARMING nel 1877 e TREUB nel 1884 ancora nelle Cicadee. In GOROSCHANKIN (1883a e b) troviamo ben chiara la specificazione che esistono nelle Cicadee, in *Ginkgo* e nelle Abietinee, tra cui anche *Pinus pinea*, aperte comunicazioni fra il protoplasma della cellula centrale ed il protoplasma delle cellule del tappeto: « Diese Membran Besteht aus Cellulose und sie scheint nur an der Seite, welche dem Protoplasma des Corpusculum zugewandt ist, verdickt zu sein. Sie enthält eine grosse Menge von Tüffeln, mit echten Siebplatten versehen, durch welche das Protoplasma der Zellen der deckenden Endospermschicht mit dem Protoplasma des Corpusculum in offene Communication tritt ». Secondo GOROSCHANKIN le punteggiature mancano invece nelle Cupressinee.

HIRASE (1895) in *Ginkgo biloba* trova una relazione fra la comparsa di grosse granulazioni nell'oosfera ed una sorta di gemmazione del nucleolo sia della stessa oosfera sia delle cellule del tappeto, ed ammette un trasporto di sostanza attraverso le punteggiature esistenti sulla parete cellulare di divisione fra cellula centrale e cellule del tappeto. BLACKMAN (1897) vede le punteggiature nella parete della cellula centrale di *Pinus silvestris*, ma non la continuità protoplasmatica con le cellule del tappeto e si limita a riportare l'opinione di GOROSCHANKIN. IKENO (1898) riprende lo studio su *Cycas revoluta*, e, ricordando come GOROSCHANKIN ammettesse una aperta comunicazione fra cellula centrale e cellule del tappeto, riporta di aver constatato diversi stadi del trasporto di sostanze, che in condizioni naturali verosimilmente devono essere semifluidi, ma che nei preparati, a causa della fissazione, appaiono come granulazioni. Alla periferia della cellula centrale si trova radunata una massa di queste granulazioni, evidentemente provenienti dalle cellule della parete. Inoltre, il nucleo delle cellule del tappeto spesso si avvicina ad un ponte plasmatico e li forma un corto becco che deve preludere al distacco di una porzione del nucleo stesso, o comunque dimostra che il nucleo è interessato alla emissione di una sostanza, che deve poi attraversare il ponte plasmatico di comunicazione.

ARNOLDI in *Cephalotaxus fortunei* (1900a) dice che le cellule del tappeto

in un primo tempo hanno protoplasma ricco di vacuoli e nucleo ricco di cromatina con un nucleolo rotondeggiante. In seguito il citoplasma si fa più denso ed il nucleolo diviene irregolare; inoltre nell'interno del nucleo si trovano dei corpicciattoli, che presumibilmente derivano dal nucleolo. Questi corpicciattoli si ritrovano poi anche nel citoplasma delle cellule del tappeto e nel citoplasma della cellula centrale. Questo materiale però non parrebbe usufruire, in *Cephalotaxus*, di un passaggio diretto, in quanto non vi si sono potuti vedere pori nella parete divisoria: esso passerebbe sotto l'aspetto di goccioline di sostanza semifluida, cioè il passaggio avverrebbe per filtrazione. Diverso è il caso di talune Abietinee, e cioè *Pinus cembra*, *P. montana*, *P. peuce (strobis)*, *Abies sibirica*, dove ARNOLDI (1900b) descrive e raffigura un vero e proprio passaggio dei nuclei dalle cellule del tappeto alla cellula centrale attraverso a punteggiature aperte. Egli ha visto più di 150 nuclei durante questo passaggio, ed ha osservato anche che i nuclei delle cellule endospermatiche vicine possono passare nelle cellule del tappeto, che hanno perduto i loro nuclei; ciò che spiegherebbe il perchè i nuclei siano sempre presenti nelle cellule del tappeto, anche negli stadi più avanzati.

MURRELL (1900) in *Tsuga*, nonostante l'esame accurato di numerosi archeogoni, non ha riscontrato un singolo indubitato esempio di passaggio di nuclei.

LAND (1902) non ha veduto connessioni protoplasmatiche fra le cellule del tappeto e la cellula centrale in *Thuja*, cosa del resto già segnalata da GOROSCHANKIN (1883) per le Cupressinee da lui esaminate (*Juniperus communis* L., *J. virginiana* L., *Thuja occidentalis* L. e *Cupressus funebris* Endl.), e non crede che i nuclei del tappeto possano passare nella cellula centrale.

COKER (1903) non è stato capace di stabilire l'esistenza di connessioni protoplasmatiche fra cellula centrale e cellule del tappeto in *Taxodium*, ma pensa che tali connessioni esistano. Egli nota che su per giù all'epoca in cui avviene la divisione fra nucleo del canale del ventre e nucleo dell'oosfera, i nuclei delle cellule del tappeto cominciano a disorganizzarsi, risolvendosi in un numero di corpi cromofili che vengono a trovarsi liberi nel citoplasma delle stesse cellule.

MIYAKE (1903) non ha trovato passaggio di sostanze nucleari dal tappeto alla cellula centrale in *Picea excelsa*.

STOPES (1904) in diverse Cicadee (*Zamia muricata*, *Macrozamia preissii*, ecc.) non riscontra le irregolarità del nucleo delle cellule del tappeto osservate da IKENO in *Cycas revoluta*, né la perdita da parte dello stesso nucleo di pezzetti che migrino nella oosfera. Il nucleo cellulare è molto grande, normale in forma, con 1-4 distinte formazioni simili a nucleoli e del tutto simili ai corpicciattoli che si trovano nelle stesse cellule del tappeto e nella oosfera.

Particolarmente interessante è il lavoro della FERGUSON (1904), in quanto tratta diffusamente l'argomento su talune specie del genere *Pinus*. Però le specie non sono quelle studiate da ARNOLDI, perché si tratta di *Pinus strobus*, *P. rigida*,

*P. austriaca*, *P. montana* var. *uncinata* e *P. resinosa*, mentre ARNOLDI aveva preso in considerazione, come già detto, *Pinus cembra*, *P. montana*, *P. peuce* (*strobis*). La FERGUSON a questo riguardo insiste nel mettere in evidenza, data la diversità dei risultati, la diversità del materiale e non accetta, naturalmente, la sinonimia fra *Pinus strobis* e *P. peuce*; del resto il richiamo di ARNOLDI potrebbe riferirsi soltanto alla circostanza che il *Pinus peuce* è di solito chiamato lo *strobis* dei Balcani. Comunque non si può arrivare molto a fondo su questo soggetto, perché né l'una né l'altro riportano i nomi degli autori. La FERGUSON non accetta le conclusioni di ARNOLDI, sembrandole impossibile che un fenomeno così ovvio come il passaggio dei nuclei potesse essere sfuggito alla sua osservazione; però pensa che il nucleolo del nucleo della cellula centrale ed i nucleoli delle cellule del tappeto siano attivamente impegnati nella formazione di una sostanza che, almeno nel nucleo della cellula centrale, assume la forma di nucleoli secondari. Questi nucleoli passano, probabilmente in soluzione, nel citoplasma della cellula centrale e con graduale sviluppo danno luogo ai vacuoli proteici o sfere nutritive dell'oosfera.

La SMITH (1904) mette in evidenza in *Zamia* un fenomeno del tutto nuovo, non segnalato dagli autori che precedentemente avevano preso in considerazione le Cicadee. Attraverso alle punteggiature, che sono forate, il citoplasma della cellula centrale manda protuberanze che si portano a contatto del citoplasma delle cellule del tappeto, formando dei processi simili ad austori. In nessun caso però ci fu indicazione del passaggio di nuclei e nucleoli, come mai fu trovata alcuna cellula del tappeto senza nucleo. Siccome però questi austori nei preparati appaiono spesso rotti, la SMITH pensa che possano sbagliarsi per materiale che passi in massa dalle cellule del tappeto alla cellula centrale; egualmente le estremità rigonfiate degli austori, tagliate secondo un piano longitudinale tangenziale, possono essere sbagliate per nuclei.

Il dato della SMITH è pienamente confermato da CHAMBERLAIN (1906), che ha studiato lo sviluppo del gametofito femminile in *Dioon*, trovando fra l'oosfera e le cellule del tappeto austori in tutto simili a quelli di *Zamia*; inoltre ha confermato questo stesso reperto anche in *Ceratozamia*, *Cycas* ed *Encephalartos*. In stadi giovanili dello sviluppo dell'archegonio la parete della cellula centrale è molto sottile e non ha punteggiature visibili. Ma più tardi la superficie interna della parete subisce un forte ispessimento secondario, interrotto solo dalle larghe punteggiature. Dopo che gli austori si sono completamente sviluppati, il loro citoplasma è in diretto contatto con quello delle cellule del tappeto, cosicché le sostanze possono passare dalle cellule del tappeto agli austori con la stessa prontezza con cui passano da una parte all'altra in una stessa cellula del tappeto. Poiché nello stesso anno 1906 era uscito il lavoro di STOPES e FUJII, che negano recisamente la continuità citoplasmatica fra cellula centrale e cellule del tappeto, CHAMBERLAIN obietta che le loro figure si riferiscono evidente-

mente a materiale giovane, in cui gli austori non hanno raggiunto il loro pieno sviluppo; quando sono del tutto sviluppati essi si proiettano profondamente nelle cellule del tappeto e la loro semplice pressione può rompere la membrana.

STOPES e FUJII (1906) trattano insieme la struttura della parete della cellula centrale dell'archegonio nelle Cicadee, in *Ginkgo* ed in *Pinus*, sostenendo che è essenzialmente la stessa, e concludono che è sempre presente una membrana che chiude le punteggiature fra cellula centrale od oosfera e cellule del tappeto. Questa membrana, come pure la porzione ispessita delle punteggiature di secondo e terzo ordine, è perforata solo da plasmodesmi e viene esclusa ogni comunicazione aperta. Gli Aa. chiamano punteggiature di primo ordine quelle che si riscontrano nella parete molto ispessita, mentre chiamano punteggiature di secondo e terzo ordine quelle che si trovano in tratti di parete via via meno ispessita: una punteggiatura di primo ordine può avere un diametro molto grande e contenere sul suo fondo ispessimenti di secondo e terzo ordine. In nessun caso essi hanno osservato una migrazione di nuclei di cellule del tappeto o dell'endosperma: anche quando lo sviluppo dell'embrione è già cominciato, i nuclei del tappeto mantengono la loro integrità, e non pare opportuno considerare i nuclei ed i nucleoli delle cellule del tappeto come i soli interessati nella diretta nutrizione dell'oosfera. Ogni cellula dell'endosperma partecipa alla riserva temporanea ed al passaggio delle sostanze nutritizie all'oosfera; apparentemente lo strato del tappeto può avere qualche parte importante nell'elaborare semplici composti solubili in forme leggermente più condensate prima che passino nella oosfera, ma sempre però in forma solubile.

HAUPT (1941) in *Pinus lambertiana* e *P. monophylla* riporta l'opinione della FERGUSON che i corpi proteici sorgano nei nucleoli dell'oosfera e delle cellule del tappeto, ma aggiunge che il suo studio non ha portato alcuna conferma che ciò sia vero.

Questa rapida rassegna può essere conclusa con quanto avviene in *Ephedra*. Purtroppo non abbiamo potuto vedere il lavoro di JACCARD (1894) sulla embriologia di *Ephedra helvetica*, ma qualche notizia in proposito si è potuta ricavare dal già citato lavoro di IKENO (1898) su *Cycas* e dal Bot. Centralb. Vol. XVI, 1895, pp. 112-113. JACCARD ritiene che il tappeto debba avere certamente una funzione nella nutrizione e nell'accrescimento dell'archegonio, e dice che dopo la fecondazione esso comincia a disorganizzarsi. A partire da questo stadio gli archegoni si riempiono di un denso citoplasma e di numerosi nuclei molto colorabili provenienti dalla disorganizzazione del tappeto. Questi nuclei assomigliano tanto ai nuclei sessuali che diviene impossibile distinguerli da essi. LAND (1907) descrive lo stesso fenomeno in *Ephedra trifurca*: poco dopo la fecondazione nelle cellule del tappeto i nuclei si dividono, o mitoticamente o amitoticamente, e le pareti cellulari, che sono sempre state estremamente tenui, scompaiono, cosicché il loro citoplasma si mescola con quello dell'oosfera. Un

comportamento su per giù simile è riportato da SINGH e MAHESHWARI (1962) in *Ephedra gerardiana*.

Possiamo dunque concludere che il passaggio dei nuclei viene ammesso per *Ephedra*, ma solo dopo la fecondazione ed in massa, mentre per ciò che riguarda il rimanente delle Gimnosperme fino ad oggi esaminate viene sostenuto soltanto da ARNOLDI per le Abietinee durante la maturazione dell'archegonio e singolarmente attraverso alle punteggiature.

COULTER e CHAMBERLAIN, nella edizione del 1917 del loro trattato sulla morfologia delle Gimnosperme, mettono in guardia, a proposito dei dati di ARNOLDI, dalle interpretazioni basate su sezioni che siano spesse più di uno strato di cellule: « nuclei migranti attraverso la parete possono essere veduti, se si esaminano più strati di cellule sovrapposte. È ora conosciuto che queste larghe punteggiature delle cellule archegoniali del tappeto sono in stadi precoci chiuse da una membrana che è perforata soltanto da plasmodesmi: in queste condizioni è dunque impossibile il passaggio dei nuclei e di qualsiasi altro materiale solido. Quale sia poi la situazione in stadi più avanzati è incerto ».

All'epoca in cui uscì il lavoro di ARNOLDI, STRASBURGER (1901) tentò di spiegare il passaggio dei nuclei come un risultato delle manipolazioni del materiale fissato con la miscela di Flemming, richiamandosi a quanto osservato da MIEHE (1901) su cellule dell'epidermide, il cui nucleo passa attraverso la parete cellulare nelle cellule vicine che hanno subito una lesione ed hanno perduto il nucleo. « Questa migrazione dei nuclei in seguito alle lesioni ci darebbe la possibilità di esaminare se quanto riportato da ARNOLDI nelle oosfere delle Abietinee non fosse condizionato dal tipo di preparazione subito dal materiale ». MIEHE dal canto suo prospettò l'ipotesi che il passaggio dei nuclei segnalato da ARNOLDI potesse essere collegato ad una variazione di turgore della grossa cellula centrale, variazione che influirebbe sulle cellule che la circondano.

#### OSSERVAZIONI AL MICROSCOPIO OTTICO

##### *Materiale e metodo.*

Il materiale è stato raccolto durante i mesi di Maggio-Giugno e Luglio, ad intervalli regolari, utilizzando pine al loro terzo (ed ultimo) anno di sviluppo. *Pinus pinea* L. è infatti una specie a fruttificazione triennale, nella quale lo sviluppo degli archegoni, nella parte più micropilare del gametofito femminile appena cellularizza o, avviene appunto nel mese di Maggio del terzo anno (FRANCINI 1958). La fecondazione avviene verso la metà di Giugno, più o meno precoce a seconda del luogo di raccolta del materiale e delle annate, ed a questa segue subito lo sviluppo del proembrione e dell'embrione, che raggiunge le sue dimensioni definitive ai primi di Settembre. La fissazione è stata fatta in Helly, FAA, Formalina neutra al 10%, Karpetchenko e

Carnoy. Con quest'ultimo fissativo i risultati sono stati piuttosto cattivi; in nessun caso però sono stati ottimi, in quanto il citoplasma della cellula centrale tende a distaccarsi dalla parete.

I preparati sono stati colorati o con Ematossilina secondo Heidenhain, o con Ematossilina Delafield e Safranina.

### *Risultati.*

Durante il primo periodo di sviluppo dell'archegonio, da quando ai primi di Maggio la cellula che gli da origine comincia a distinguersi per dimensioni dalle altre cellule del gametofito femminile, occorrono ca. 10-15 giorni prima che si formi il tappeto. Mediante numerose divisioni in senso prevalentemente anticlino, si delinea attorno alla cellula archegoniale uno strato di cellule più o meno regolarmente allineate, che si distinguono bene dalle cellule circostanti. In qualche caso, specialmente dal lato prospiciente un altro archegonio, il tappeto può essere interrotto da due o tre cellule non differenziate (cfr. Fig. 1, parete a sinistra), come in qualche caso, specialmente sui lati che non guardano altri archegoni, il tappeto può essere a più strati. Sempre si nota la tendenza ad un minor funzionamento del tappeto nelle zone interposte fra i tre (o due) archegoni presenti, ciò che ricorda la condizione di quelle Conifere che hanno gli archegoni in gruppo, con un tappeto unico che li avvolge tutti. Il tappeto è interrotto nella zona confinante col collo.

La Fig. 1 rappresenta un archegonio con il tappeto ben sviluppato. La cellula centrale ha un citoplasma fortemente vacuolizzato ed il nucleo in posizione estrema verso il collo. Le cellule del tappeto sono di dimensioni notevoli, con l'asse maggiore in senso anticlino, ed hanno citoplasma molto denso, vacuoli grandi, grosso nucleo con grosso nucleolo, più spesso con due o più nucleoli, che si presentano frequentemente deformati da bozze e protuberanze, e con zone chiare nel loro interno.

Verso la fine di Maggio o i primi di Giugno la cellula centrale ha quasi raggiunto il suo completo accrescimento, e si avvicina al millimetro di lunghezza. Il suo citoplasma tende a divenire più denso e la parete a confine con le cellule del tappeto si presenta ispessita piuttosto fortemente, ma non uniformemente. Nelle numerose aree di minore o mancato ispessimento si insinua il citoplasma (Fig. 2). I nuclei delle cellule del tappeto sono grandi, talvolta addirittura enormi, vescicolosi, e lasciano poco spazio al citoplasma; essi hanno nucleoli molto grandi, con aree chiare spesso occupate da materiale di apparente aspetto cristallizzato. La tensione interna di questi nuclei deve essere molto alta, perché spesso si vedono delle protuberanze nucleari, in numero di una, due o anche più per nucleo, impegnate in altrettante punteggiature, sia della parete che divide le cellule del tappeto dalla cellula centrale, sia di quella che divide le cellule del tappeto dalle cellule endospermiche che lo circondano.

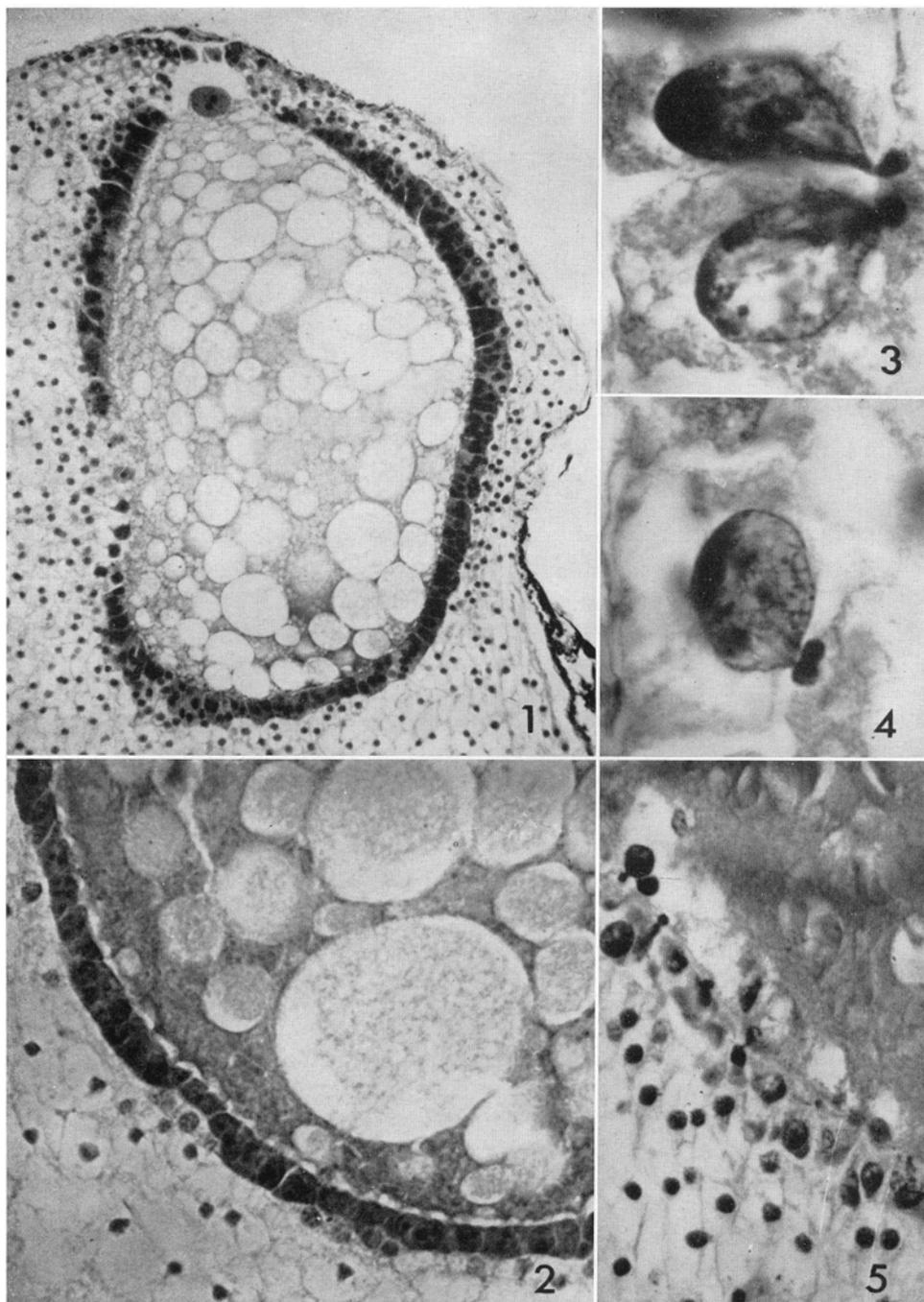


Fig. 1. — Archegonio giovane (11 Maggio 1954) con citoplasma della cellula centrale fortemente vacuolizzato, immerso nell'endosperma primario (gametofito ♀). Si è già differenziato lo strato del tappeto. Sul lato destro si vede il contorno endospermatico, con la membrana della megaspora che arriva fino alla parte basale degli archegoni, lasciando libera la loro parte superiore (cf. FRANCINI, 1954). Dal lato sinistro si trova, nel preparato, un altro archegonio non compreso nella fotografia.  $\times 140$ .

Fig. 2. — Archegonio in avanzato stadio di sviluppo (6 Giugno 1953). La cellula centrale mostra i vacuoli più o meno riempiti e la parete irregolarmente ispessita. Si vedono le grosse punteggiature in corrispondenza delle quali il citoplasma della cellula centrale manda propaggini fino a contatto delle cellule del tappeto.  $\times 300$ .

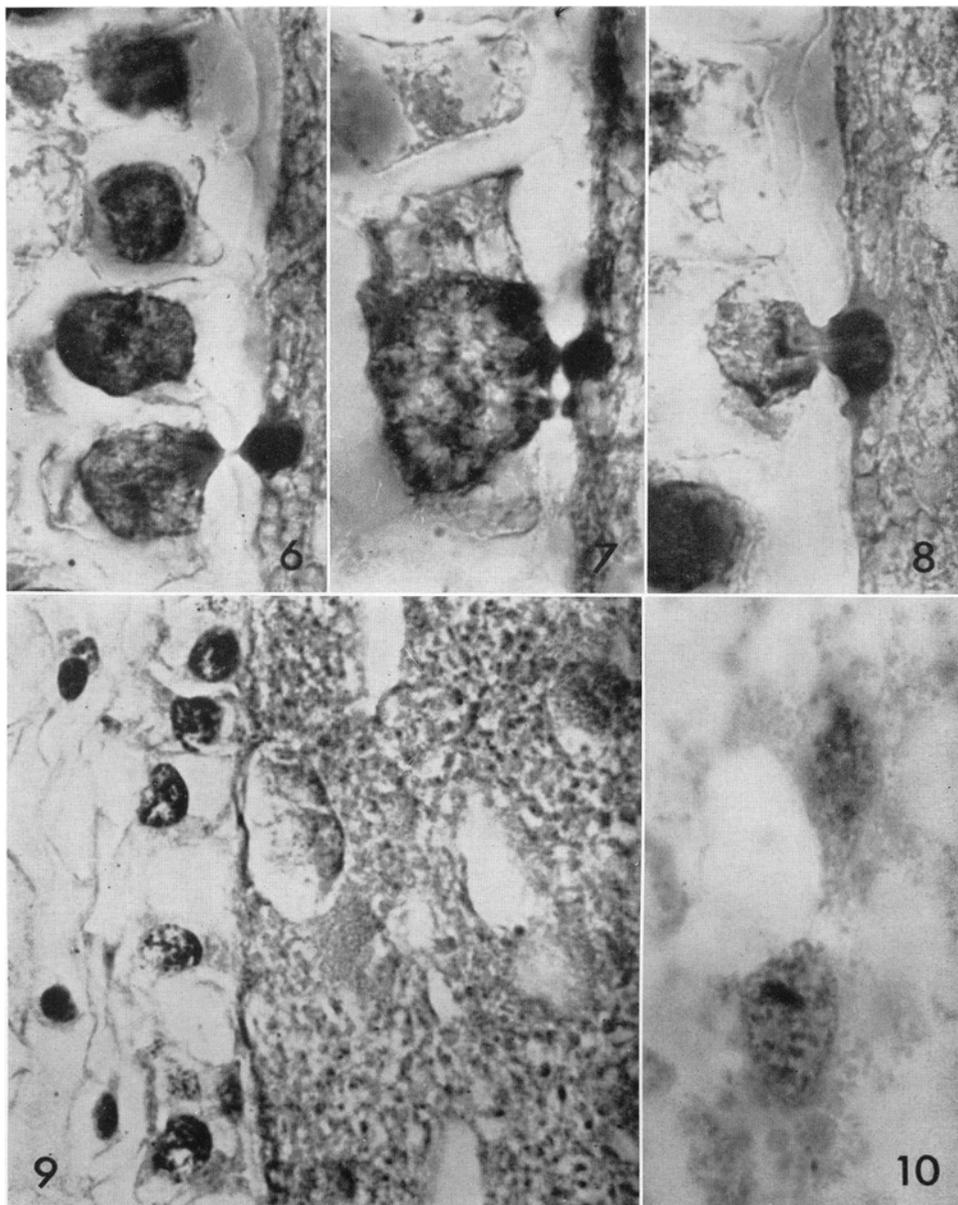


Fig. 3-4. — Cellule del tappeto che mandano ernie nucleari nelle cellule endospermatiche poste fra due archeconi. 27 Maggio 1963.  $\times 1.400$ .

Fig. 5. — Archegonio durante la mitosi che dà origine alla cellula del ventre. Si vedono nuclei delle cellule del tappeto in passaggio verso il citoplasma della oosfera. 7 Giugno 1963.  $\times 300$ .

Fig. 6. — Nucleo della cellula del tappeto che manda una propaggine nel citoplasma della oosfera. 7 Giugno 1963.  $\times 1.400$ .

Fig. 7. — Cellula del tappeto, il cui grosso nucleo manda tre propaggini attraverso a tre punteggiature verso la oosfera (delle tre una è fuori fuoco). 7 Giugno 1963.  $\times 1.400$ .

Fig. 8. — Cellula del tappeto con nucleo che passa, attraverso ad una punteggiatura, nel citoplasma della oosfera. 7 Giugno 1963.  $\times 1.400$ .

Fig. 9. — Stadio di proembrione a 16 cellule, in cui si inizia l'allungamento delle cellule del sospensore (17 Giugno 1963). Le cellule del tappeto hanno perduto per gran parte i loro caratteri differenziali, sebbene il loro nucleo sia sempre molto più grande di quello delle altre cellule endospermatiche. Talune cellule del tappeto sono vuote.  $\times 550$ .

Fig. 10. — Due nuclei delle cellule del tappeto nel citoplasma periferico della oosfera. Stadio come nella Fig. 9. 19 Giugno 1963.  $\times 1.400$ .

In corrispondenza della punteggiatura il tratto di nucleo è ridotto ad un sottilissimo istmo, mentre al di là della punteggiatura la porzione di nucleo ormai passata si rigonfia a vescicola. In condizioni normali e quando lo sviluppo della cellula centrale non è ancora del tutto compiuto (in altri termini quando il suo nucleo non dà ancora segno di entrare in mitosi), questo fenomeno si verifica preferibilmente verso le cellule endospermatriche interposte fra due archegoni (Figg. 3 e 4); ma se avviene che un archegonio subisca una interruzione di sviluppo e la sua cavità interna divenga schiacciata da ovale che era, evidentemente per caduta di turgore, si ha un notevolissimo accentuarsi del passaggio dei nuclei verso la cellula centrale: in questi casi non solo si vedono numerosi nuclei impegnati nelle punteggiature della parete divisoria, ma si vedono anche numerosi nuclei, passati precedentemente, nel citoplasma della cellula centrale.

Quando la cellula centrale si avvia a divenire oosfera, cioè quando il suo nucleo è in cariocinesi per dare origine al nucleo della oosfera ed al nucleo del ventre, e la testa del tubetto pollinico è già impegnata nel collo dell'archegonio, le ernie ed il passaggio dei nuclei dalle cellule del tappeto alla cellula centrale divengono fenomeni abbastanza vistosi (Figg. 5, 6, 7 e 8).

Avvenuta la fecondazione, verso la metà di Giugno, comincia lo sviluppo del proembrione: a questo stadio le cellule del tappeto hanno citoplasma scarso e praticamente hanno perduto quei caratteri che le distinguevano dalle altre cellule dell'endosperma, sebbene il loro nucleo sia sempre di dimensioni maggiori. Intercalate alle cellule fornite di nucleo, si trovano cellule del tutto vuote, che stanno a dimostrare che realmente in esse si è avuto uno svuotamento del contenuto in una fase precedente (Fig. 9); il fenomeno però non è affatto generale. La Fig. 10 mostra due nuclei del tappeto nel citoplasma periferico della oosfera fecondata, nella parte basale della quale si trova il proembrione all'inizio dell'allungamento del sospensore.

In seguito, quando le cellule embrionali sono state spinte dall'allungamento del sospensore nel centro dell'endosperma e l'embrione comincia a svilupparsi, il tappeto sarebbe indistinguibile dalle altre cellule dell'endosperma, se non fosse per il fatto che possiede nuclei necrotici, mentre le cellule dell'endosperma hanno nuclei più vivaci, taluno anche in mitosi. Intercalate fra le zone a nucleo degenerato vi sono zone a cellule vuote con pareti accollate. Talvolta si trovano cellule del tappeto confluite fra loro per la scomparsa della membrana radiale che le divideva.

Ai primi di Luglio, quando gli archegoni sono ormai svuotati di citoplasma, meno uno strato parietale residuo più o meno degenerato, il tappeto non è più distinguibile.

Nel materiale da noi osservato non abbiamo riscontrata la mitosi abortiva osservata da MANGENOT (1945) nel tappeto archegoniale di *Pinus laricio* e di *P. pinaster*.

## OSSERVAZIONI AL MICROSCOPIO ELETTRONICO

*Materiale e metodo.*

Il materiale è stato prelevato a Firenze, da pini del giardino dell'Istituto Agronomico per l'Oltremare, durante i mesi di Maggio, Giugno e Luglio 1962 e 1963; per quanto riguarda il 1963 contemporaneamente ai prelievi per il m.e. sono stati fatti prelievi per il m.o.

Sono state fatte fissazioni per la durata di 2 h in soluzione di acido osmico all'1%, tamponato con acetato di sodio e veronal sodico a pH 7,4 secondo la tecnica di PALADE (1952). Migliori risultati si sono ottenuti aggiungendo alla soluzione tampone 45 mg di saccarosio per cc. di fissativo secondo il metodo di CAULFIELD (1957), ed eseguendo a temperatura ambiente sia la fissazione che la successiva disidratazione fino all'inclusione in metacrilato (Butil-metil metacrilato 9:1).

Le sezioni sono state fatte col microtomo Servall Porter-Blum; le microfotografie sono state eseguite con il microscopio Philips E.M. 100.

*Risultati.*

Il punto fondamentale che ci siamo proposte di chiarire è quello che riguarda lo stato delle punteggiature sulla parete divisoria fra cellule del tappeto e cellula centrale o oosfera. Per questo, riportandoci a quanto già riscontrato al m.o., riferiremo solo in merito ai preparati fatti con materiale raccolto fra la fine di Maggio e la metà di Giugno, cioè da quando la cellula centrale è giunta o quasi giunta al termine del suo sviluppo a quando non solo è avvenuta la fecondazione ma è già in atto lo sviluppo del proembrione. Poichè non è possibile al m.e. rendersi conto del preciso stadio di sviluppo dell'archegonio, e poichè anche le date di raccolta del materiale dicono relativamente poco, trovandosi ovuli un poco sfasati tra loro anche in una stessa pina, così adopereremo sempre la denominazione di oosfera, rimanendo intesi che in essa si comprendono anche gli ultimi stadi prima della divisione che dà origine alla cellula del ventre.

Per la interpretazione delle ultrastrutture del citoplasma ci riferiremo al lavoro del CAMEFORT (1962) su *Pinus laricio*.

La Fig. 11 mostra una punteggiatura fra una cellula del tappeto e l'oosfera; la punteggiatura è diaframmata da un tratto di parete sottile, traversata da plasmodesmi. Il contrasto fra il citoplasma delle cellule del tappeto e quello della oosfera è evidentissimo. Le vescicole che si trovano abbondanti nel citoplasma della oosfera sono interpretate dal CAMEFORT come mitocondri alterati, caratteristici della oosfera pronta per essere fecondata, ma non ancora fecondata. Secondo questo A., al termine della sua evoluzione l'oosfera si trova provvista di un condrioma molto degradato e di un apparato plastidiale profondamente deformato.

Le Figg. 12 e 13 mostrano la differenza fra le normali cellule endospermatiche con grande vacuolo e piccolo nucleo e le cellule del tappeto con grande nucleo e prive di vacuoli definiti; si notino nella Fig. 13 le due punteggiature pervie, una fra due cellule del tappeto ed una fra cellula del tappeto e cellula endospermatice.

Le Fig. 14 e 15 mostrano, come già la Fig. 11, punteggiature diaframmate da parete, ma assai sottile. La Fig. 16, invece, una punteggiatura in cui la parete non è visibile; tuttavia i due citoplasmi mantengono i loro caratteri differenziali, ciò che indica che non vi è stato mescolamento. Si ha l'impressione che la parete sia esistita e poi scomparsa, mentre i due citoplasmi hanno mantenuto le relative posizioni.

Nelle Figg. 17-22 non si nota la differenza, così evidente nelle figure precedenti, fra citoplasma della oosfera e citoplasma del tappeto. Il diaframma fra questi due è tenuissimo ed in qualche punto appare interrotto. Si tratta evidentemente di una membranella plasmatica ed in qualche caso sembra possibile riconoscere l'affiancamento degli ectoplasmi della oosfera e della cellula del tappeto (Fig. 21). Attraverso a questa membranella plasmatica passano, usufruendo di stretti canaletti che forse rappresentano la sede dei plasmodesmi, organuli come tratti di reticolo e probabilmente anche mitocondri.

Nella Fig. 22 esiste una larga breccia nella punteggiatura, attraverso alla quale passano tratti di reticolo, vescicole, plastidi, mitocondri e dittiosomi.

Nelle Figg. 23-27 vediamo dei nuclei impegnati nelle punteggiature, in passaggio dalle cellule del tappeto alla oosfera. Nella Fig. 23 il grosso nucleo usufruisce di una intera punteggiatura, che però è assai più stretta del suo diametro. La parte periferica della oosfera ha un citoplasma bene aderente alla membrana, in modo che parrebbe doversi escludere che la causa immediata del passaggio fosse dovuta ad un forte risucchio, come invece potrebbe supporre per il caso della Fig. 24, in cui il nucleo si presenta sfrangiato nel citoplasma periferico della oosfera, che è molto scarso. Insieme al nucleo passano o sono passate formazioni piuttosto caratteristiche, che sembrerebbero da riportarsi a segmenti di reticolo con un apice allargato a vescicola. Nella Fig. 25 si vede un nucleo immerso nel citoplasma piuttosto denso della periferia della oosfera ed addossato ad un tratto ispessito della parete. Questo potrebbe essere un

---

Fig. 11. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Un tratto sottile della parete della oosfera, munito di plasmodesmi, è interposto tra due vistosi ispessimenti. A destra di questa parete osserviamo la parte periferica della oosfera, costituita da uno strato citoplasmatico a struttura vescicolare. Analoga struttura è stata riscontrata dal CAMEFORT nella oosfera matura, ma non ancora fecondata, di *Pinus laricio* Poir. A sinistra della parete della oosfera si osservano le cellule del tappeto, dove sono visibili numerosi condriosomi, alcuni dittiosomi e parecchie inclusioni di sostanze osmiofile. Inoltre qua e là si notano tratti di reticolo endoplasmatico ed alcune formazioni ergastoplasmiche, arrotolate più o meno secondo una spirale, già segnalate dal CAMEFORT nelle cellule del tappeto di *Pinus laricio*.  $\times 8.450$ .

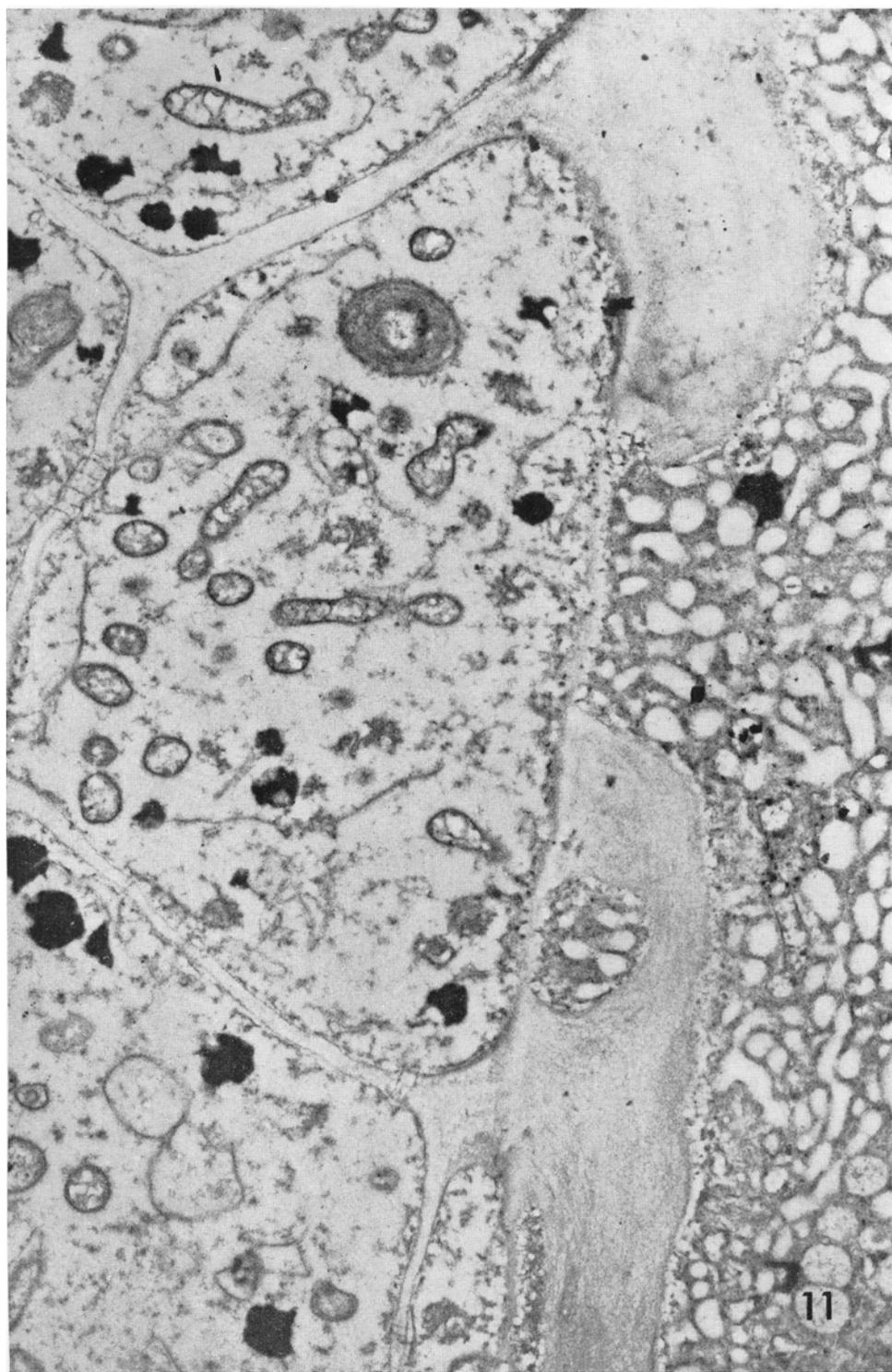


Fig. 12. — Prelievo del 17 Giugno 1963. Cellule dell'endosperma con scarso contenuto citoplasmatico e nuclei addossati alle pareti cellulari, granuli di amido e numerose inclusioni osmiofile.  $\times 3.375$ .

Fig. 13. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Cellule del tappeto con citoplasma ricco di condrioma e di sostanze osmiofile e con grosso nucleo. A destra è visibile un plastidio con le lamelle; a sinistra in basso un plastidio deformato, secondo quanto ha descritto CAMEFORT in *Pinus laricio*. Si vedono due grosse punteggiature: una tra due cellule del tappeto (in basso, a sinistra), l'altra tra una cellula del tappeto ed una cellula dell'endosperma (in alto, a destra).  $\times 3.524$ .

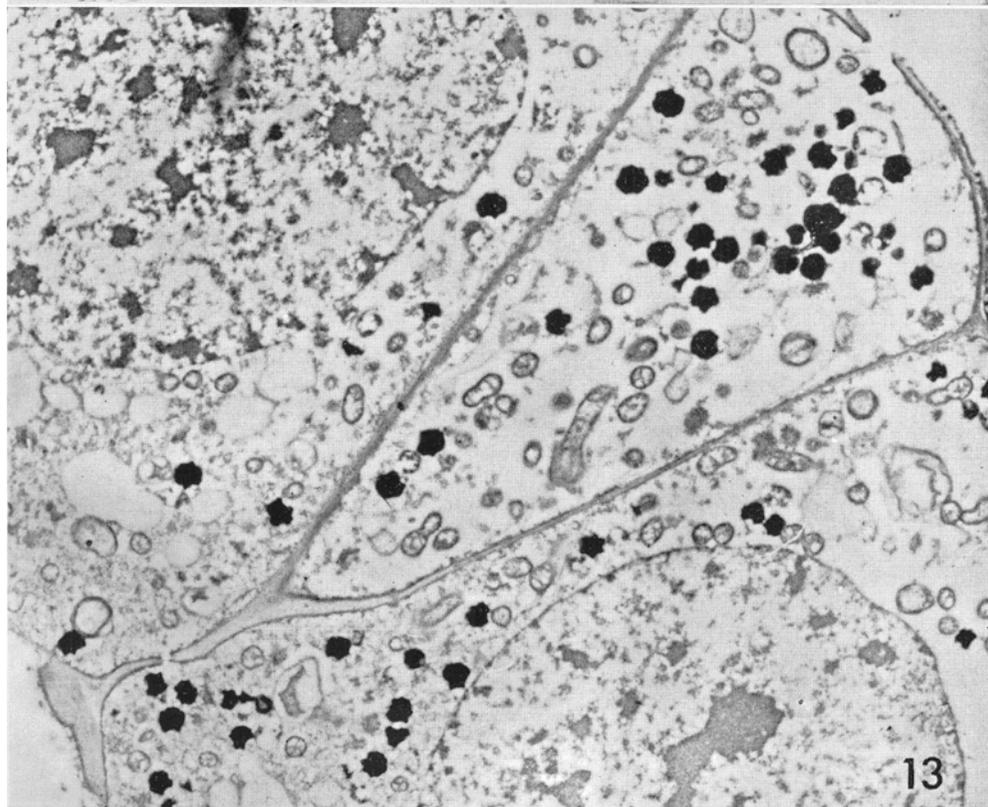
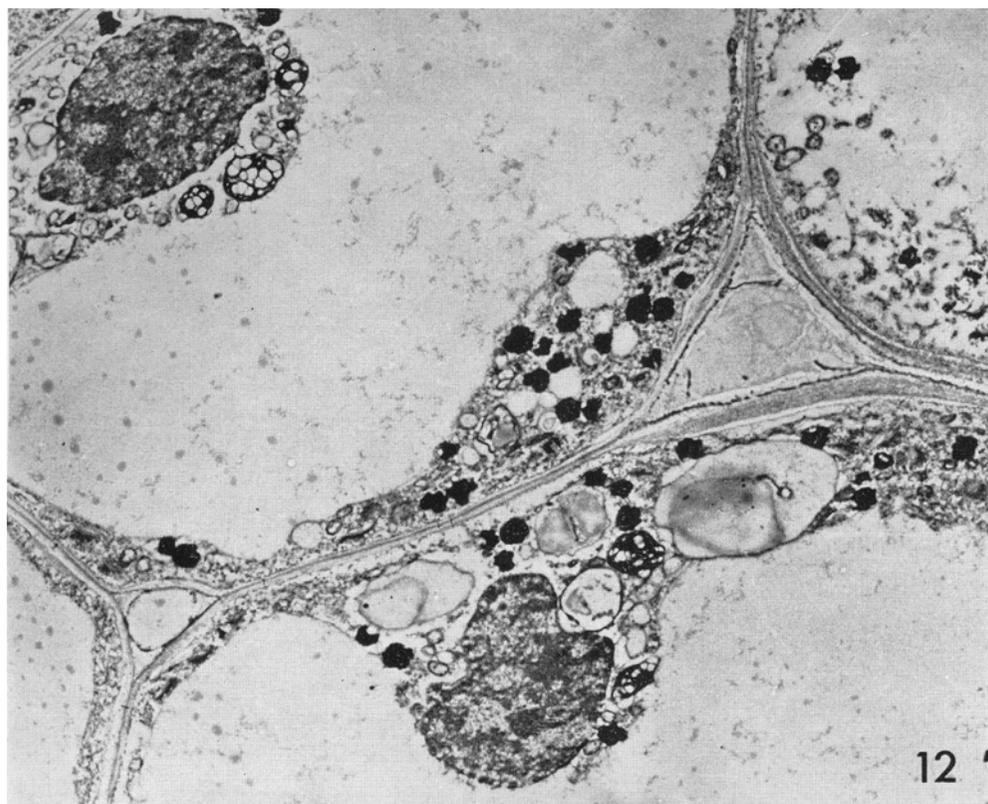


Fig. 14. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Sono visibili due ispessimenti della parete della oosfera collegati da un tratto sottile, munito di plasmodesmi. La struttura del citoplasma della oosfera (a destra) è vescicolare, come quella descritta nella Fig. 11. Nella cellula del tappeto (a sinistra) osserviamo parecchi condriosomi ed inclusi di sostanze osmiofile.  $\times 8.050$ .

Fig. 15. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Nel tratto sottile della parete della oosfera sono visibili parecchi plasmodesmi. A destra si nota la oosfera, il cui citoplasma si presenta ad alveoli molto più piccoli di quelli della fig. precedente. Si osservano anche grossi vacuoli ripieni di sostanze intensamente osmiofile.  $\times 8.050$ .

Fig. 16. — Prelievo del 16 Giugno 1962. I due ispessimenti della parete della oosfera non appaiono uniti da membrana. È però da segnalare che i citoplasmici delle due cellule, pur sembrando a contatto diretto, mantengono la loro caratteristica struttura senza mescolarsi tra loro.  $\times 5.812$ .

Fig. 17. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Tra i due ispessimenti della parete della oosfera è visibile uno straterello molto sottile, attraverso il quale passa il reticolo endoplasmatico.  $\times 8.280$ .

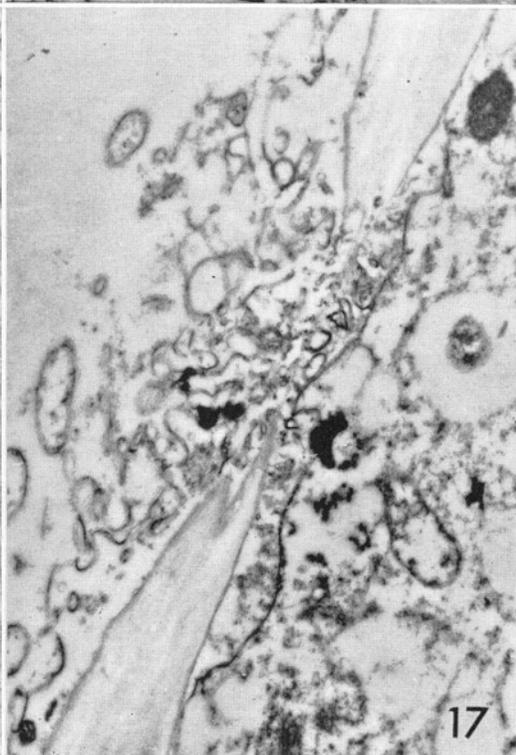
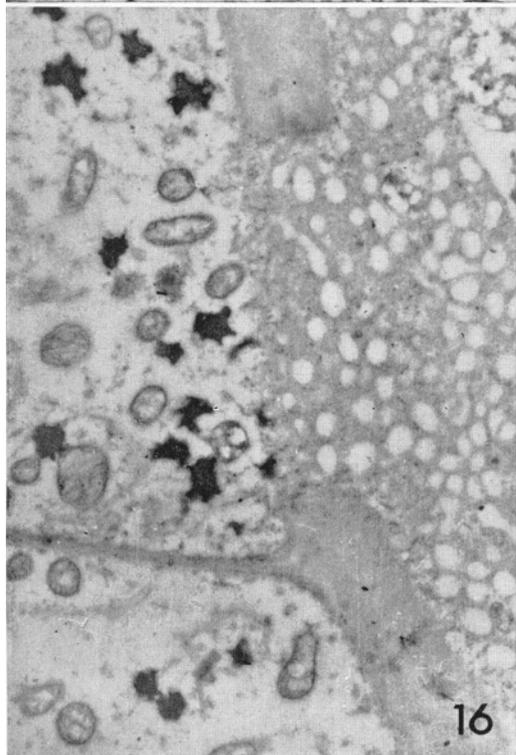
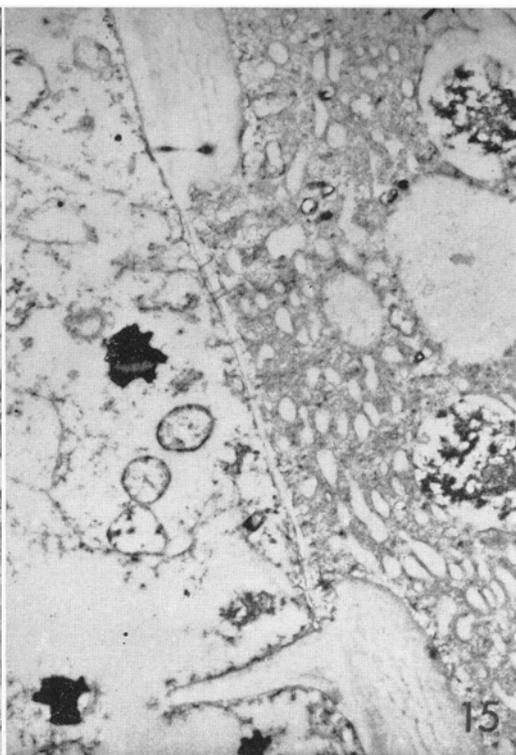
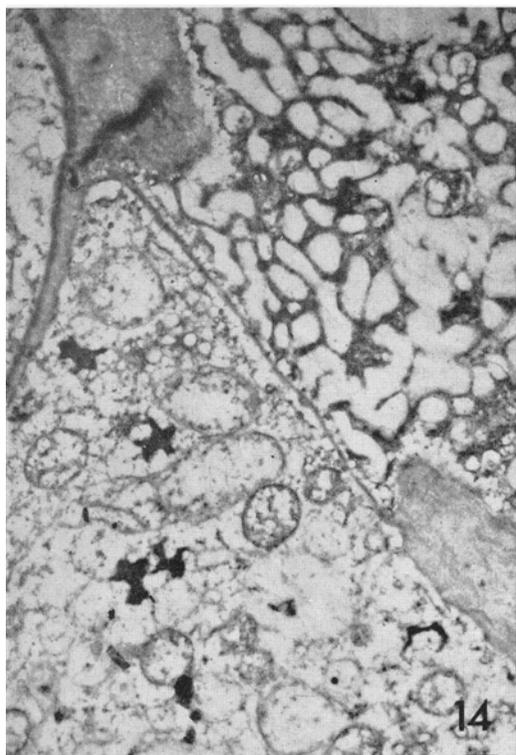
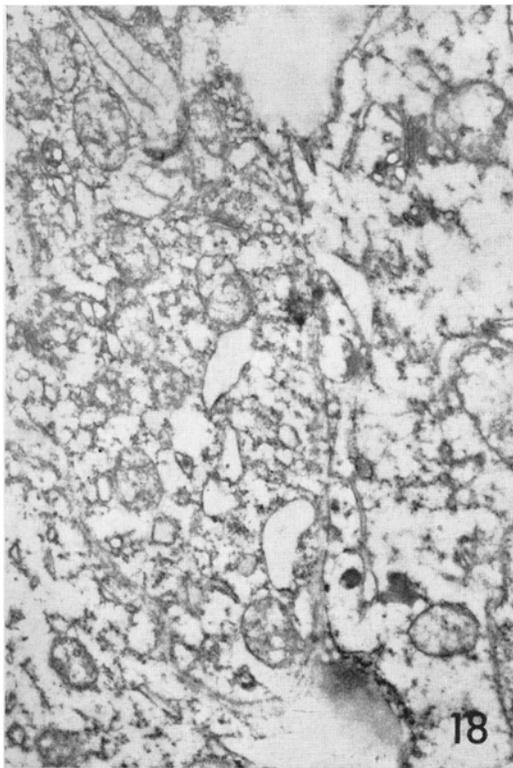


Fig. 18. — Prelievo del 27 Maggio 1963. Due ispessimenti della parete della oosfera sono ancora uniti da uno straterello di membrana sottilissima. Questa però in qualche punto presenta delle piccole interruzioni, che mettono in comunicazione la oosfera con la cellula del tappeto. In essa (a sinistra) si vede un plastidio con poche lamelle. Nella oosfera (a destra) si vede un dittiosoma.  $\times 14.970$ .

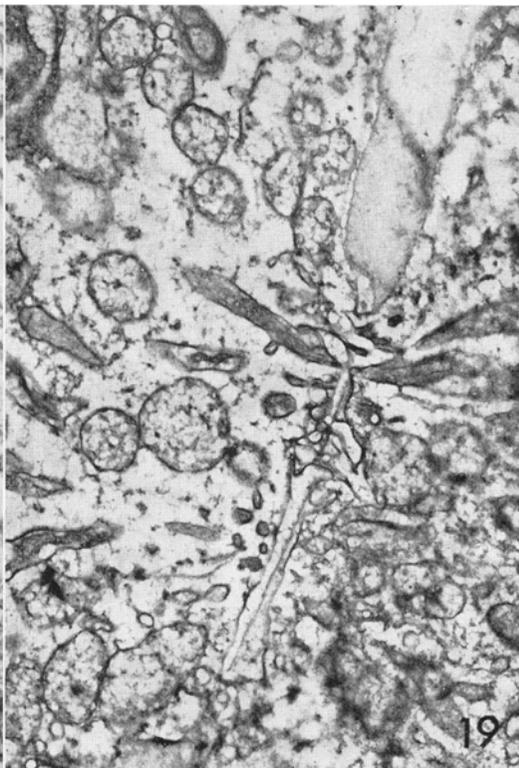
Fig. 19. — Prelievo del 27 Maggio 1963. Nello strato sottile interposto tra due ispessimenti della parete della oosfera si scorgono delle aperture, attraverso alle quali si sta attuando il passaggio di corpi figurati dal citoplasma della cellula del tappeto (a sinistra) a quello della oosfera (a destra). In alto a sinistra si vede un plastidio deformato.  $\times 10.350$ .

Fig. 20. — Prelievo del 27 Maggio 1963. I due ispessimenti della parete della oosfera sono uniti da una membranella sottilissima, munita di plasmodesmi, che in alcuni punti presenta delle piccole soluzioni di continuità.  $\times 8.510$ .

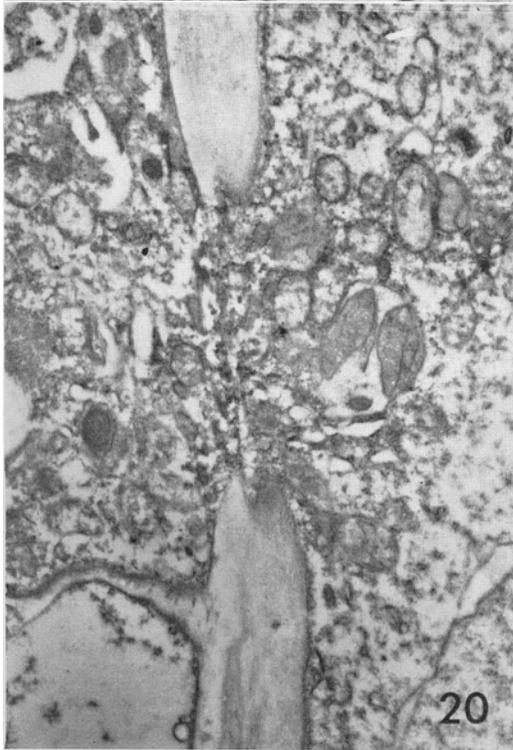
Fig. 21. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Si osserva che due ispessimenti della parete della oosfera sono uniti da un sottilissimo straterello di membrana, il quale permette ancora la netta separazione tra il citoplasma della oosfera e quello della cellula del tappeto. Nel citoplasma di questa cellula (a sinistra) si vede un plastidio con poche lamelle, caratteristica già messa in evidenza dal CAMEFORT nei plastidi della cellula del tappeto di *Pinus laricio*.  $\times 7.650$ .



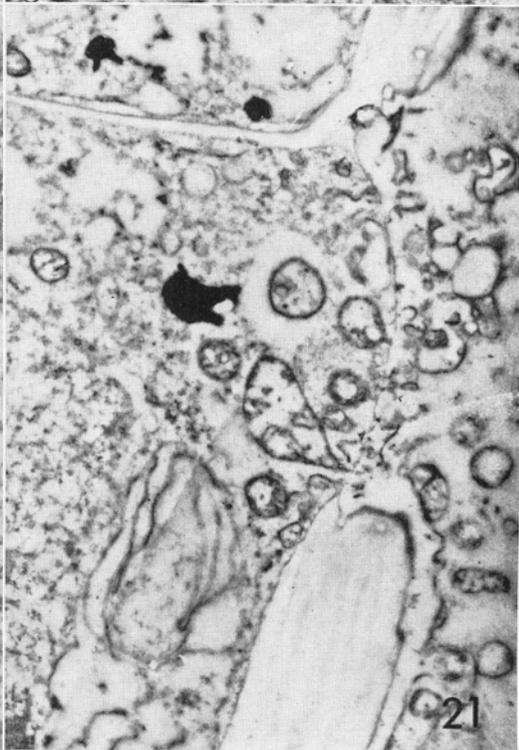
18



19



20



21

Fig. 22. — Prelievo del 27 Maggio 1963. Il tratto sottile della parete della oosfera è parzialmente interrotto e si può osservare in atto il passaggio di corpi figurati (alcuni condriosomi ed un dittiosoma) dalla cellula del tappeto (a sinistra) alla oosfera (a destra). In questa si vedono alcuni plastidi deformati.  $\times 9.660$ .

Fig. 23. — Prelievo del 27 Maggio 1963. È in atto il passaggio di un nucleo dalla cellula del tappeto (a sinistra) alla oosfera (a destra) attraverso ad una apertura di considerevole ampiezza.  $\times 3.800$ .

Fig. 24. — Prelievo del 27 Maggio 1963. Nucleo impegnato in una punteggiatura situata nel tratto sottile della parete della oosfera. È evidente il passaggio del reticolo endoplasmatico attraverso le punteggiature.  $\times 8.280$ .

Fig. 25. — Prelievo del 27 Maggio 1963. È visibile un nucleo che è entrato quasi completamente nella oosfera (a destra). Il passaggio però avviene attraverso ad una punteggiatura posta ad un livello diverso da quello che si osserva nella fig.; infatti qui la membrana, anche nei tratti più sottili, non presenta soluzioni di continuità.  $\times 5.400$ .

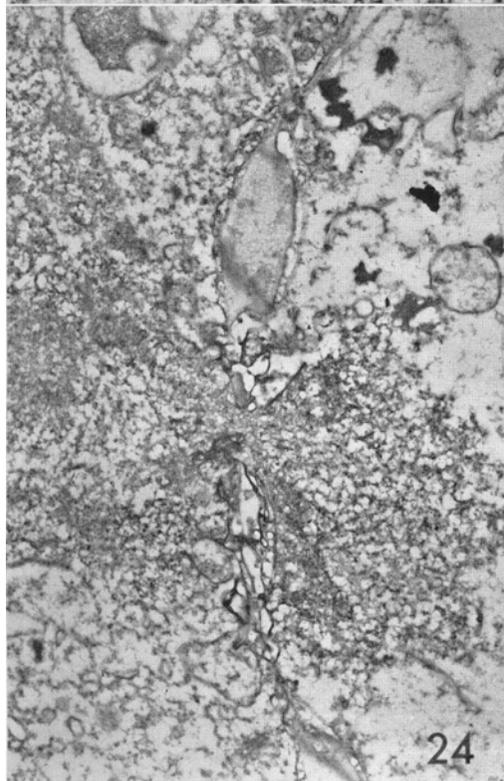
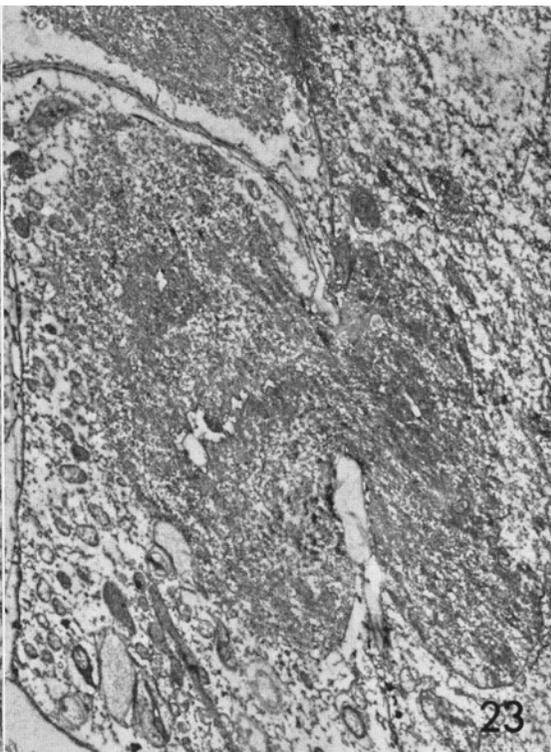
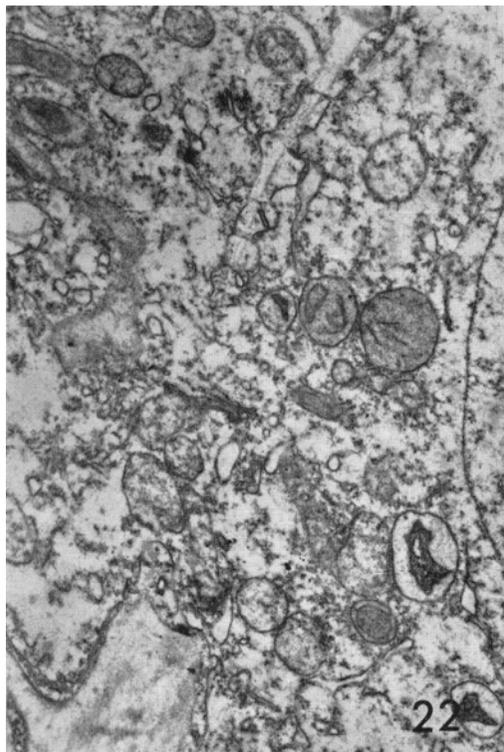
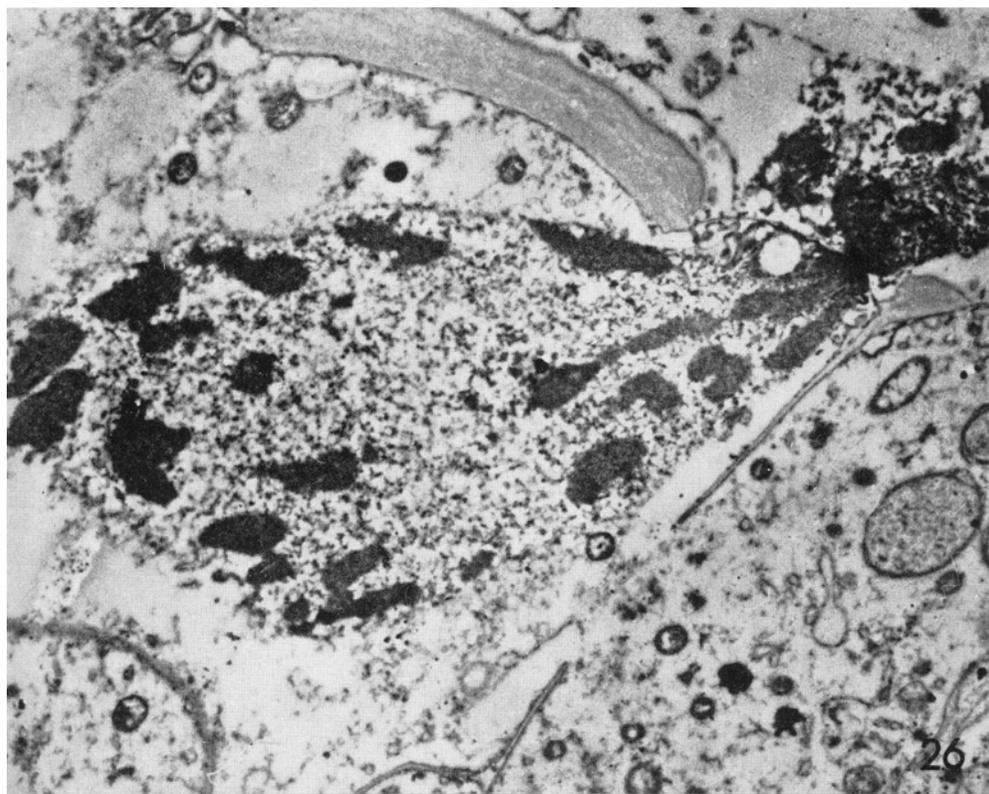


Fig. 26. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Nucleo della cellula del tappeto impegnato in una piccola soluzione di continuità della membranella che diaframma una punteggiatura. Le due cellule del tappeto comunicano per mezzo di una grossa punteggiatura.  $\times 7.657$ .

Fig. 27. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Nucleo impegnato in una punteggiatura della parete della oosfera. Mentre la cellula del tappeto (in basso), a cui appartiene il nucleo migrante, è quasi completamente svuotata del suo contenuto citoplasmatico, quella vicina presenta molti inclusi; tra l'altro, numerosi plastidi e condriosomi. Citoplasma scarso nella zona periferica della oosfera.  $\times 5.940$ .



26

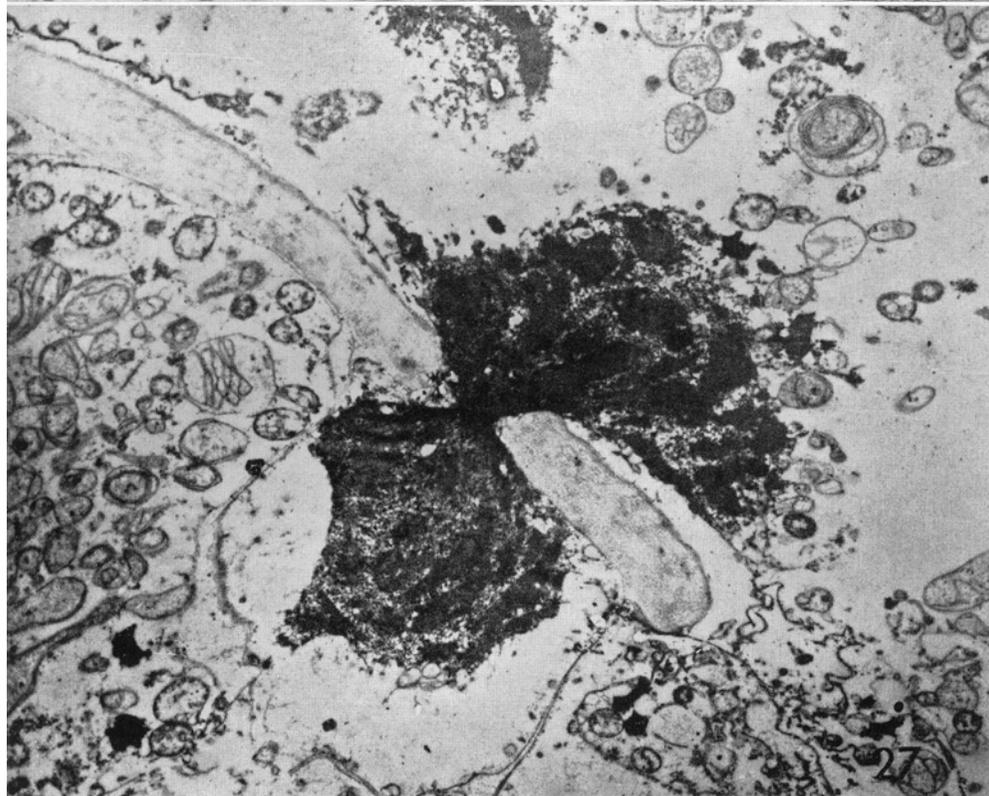


Fig. 28. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Nucleo ancora impegnato in una punteggiatura della parete della oosfera. È da notare la grande quantità di citoplasma che è entrata nella cellula uovo.  $\times 4.050$ .

Fig. 29. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Nucleo che si trova già nell'interno della oosfera, entrato probabilmente dall'apertura posta a sinistra, tra due ispessimenti della parete.  $\times 4.320$ .

Fig. 30. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Nucleo che dalla cellula del tappeto (in alto a sinistra) sta entrando nella oosfera. In questa si vedono altri due nuclei provenienti certamente da passaggi precedenti. Con i nuclei sono entrati nella oosfera anche gli inclusi citoplasmatici, che in questa fig. sono particolarmente numerosi.  $\times 4.620$ .

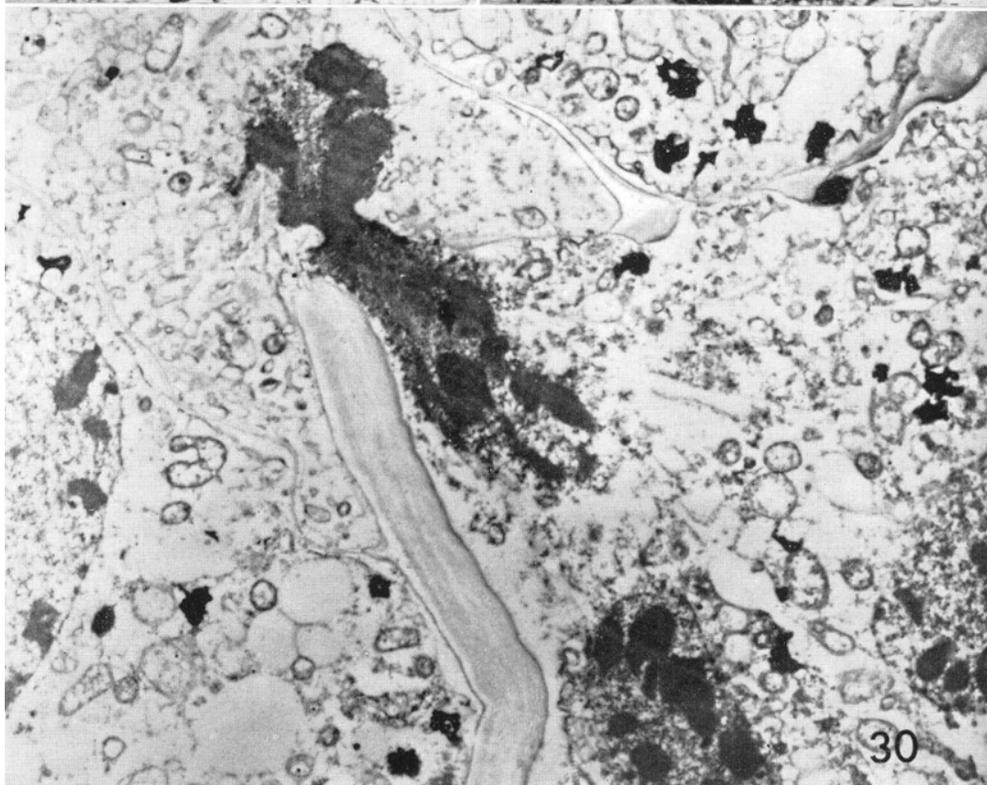
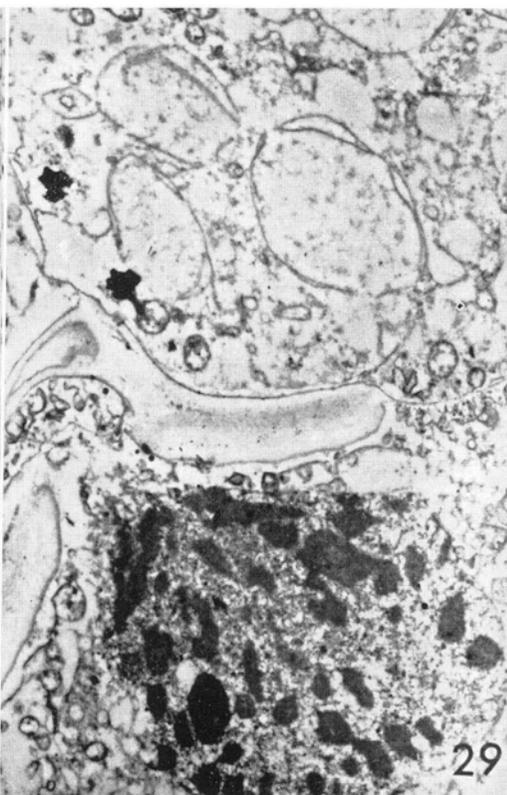
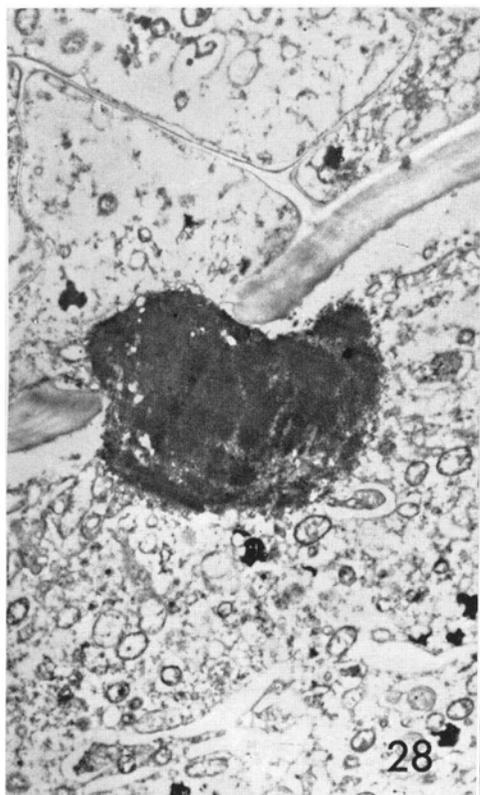


Fig. 31. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Nucleo che si trova già nella oosfera. Il suo passaggio è avvenuto attraverso l'apertura creatasi tra i due ispessimenti della parete, apertura attualmente occupata dai corpi figurati del citoplasma, che dal tappeto (in alto) stanno riversandosi nella oosfera.  $\times 8.040$ .

Fig. 32. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Nucleo in via di disfacimento, entrato nella oosfera da punteggiature non visibili nella fig. Infatti la membrana non presenta soluzioni di continuità.  $\times 6.750$ .

Fig. 33. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Nell'interno della oosfera si nota un nucleo in fase avanzata di disfacimento. Nell'interno della cellula del tappeto (a sinistra) corpi figurati si addensano contro la membrana che tappezza la punteggiatura.  $\times 3.430$ .

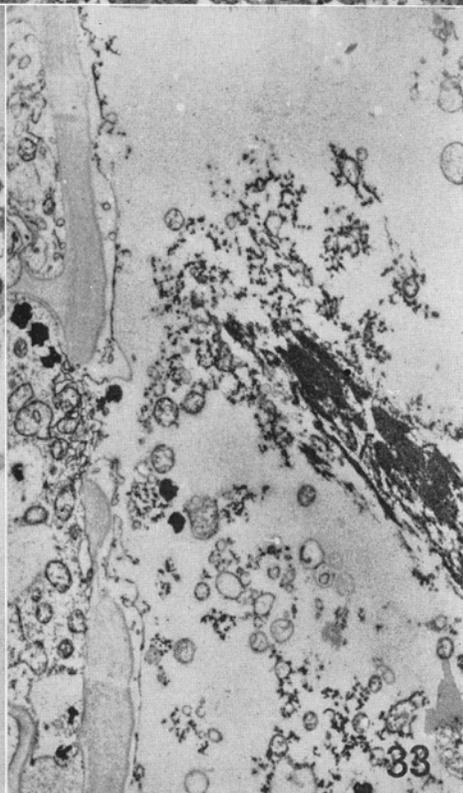
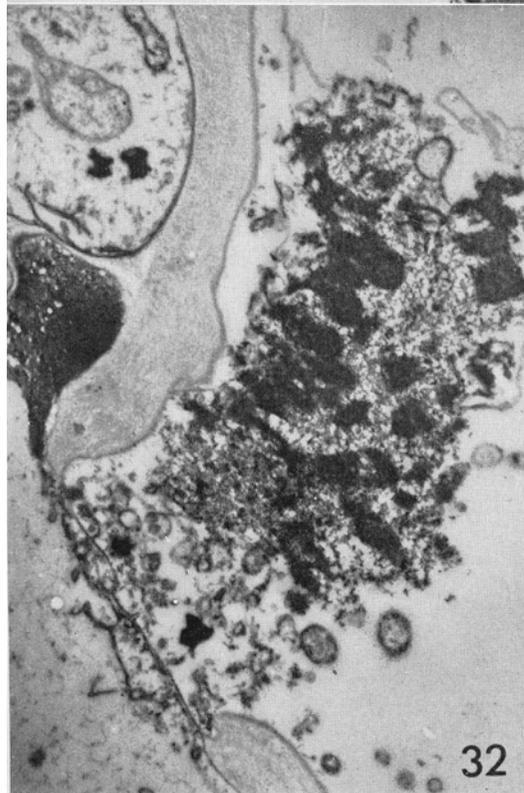
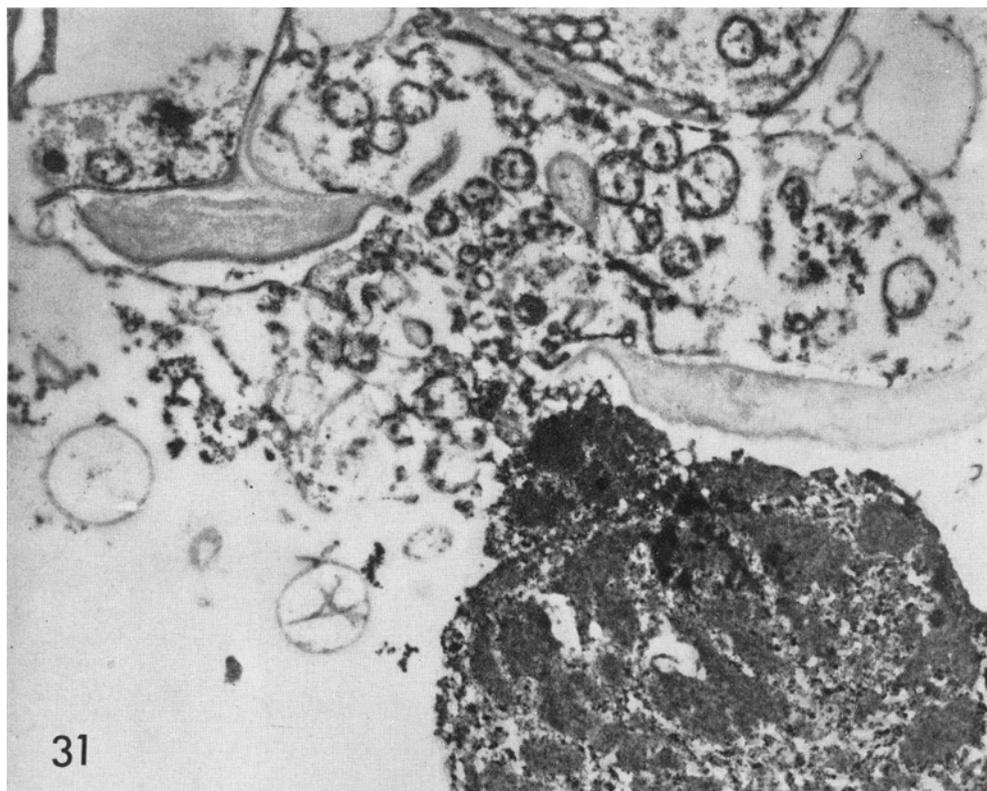
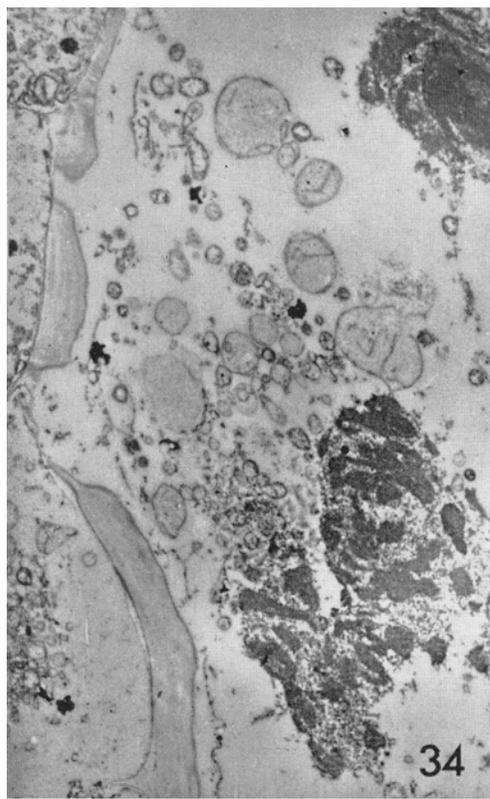


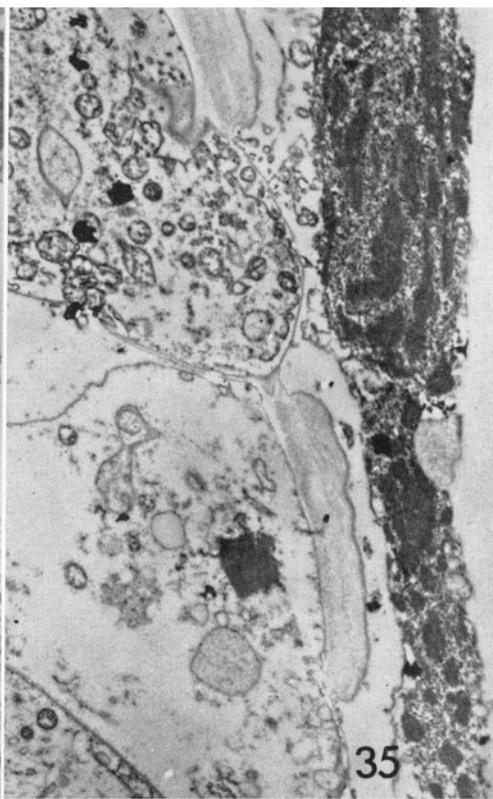
Fig. 34. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Nuclei in disfacimento nell'interno della oosfera. La parete della oosfera presenta tratti ispessiti che si alternano a tratti sottili. Non si osservano però soluzioni di continuità.  $\times 3.600$ .

Fig. 35. — Prelievo del 16 Giugno 1962. Materiale di origine nucleare, addensato alla periferia della oosfera. Nella fig. la membranella della punteggiatura non presenta interruzioni.  $\times 3.870$ .

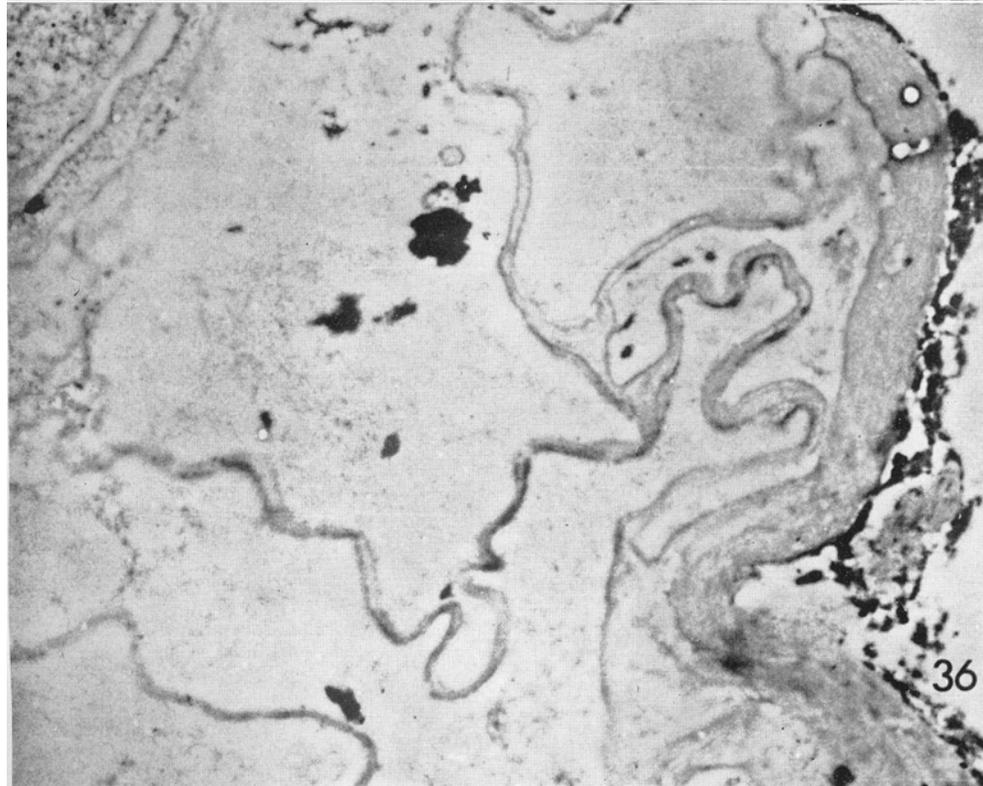
Fig. 36. — Prelievo del 16 Luglio 1962. Le cellule del tappeto e quelle dell'endosperma sono completamente svuotate e con le pareti più volte ripiegate su se stesse. A destra si vede l'ispessimento della parete della oosfera.  $\times 8.091$ .



34



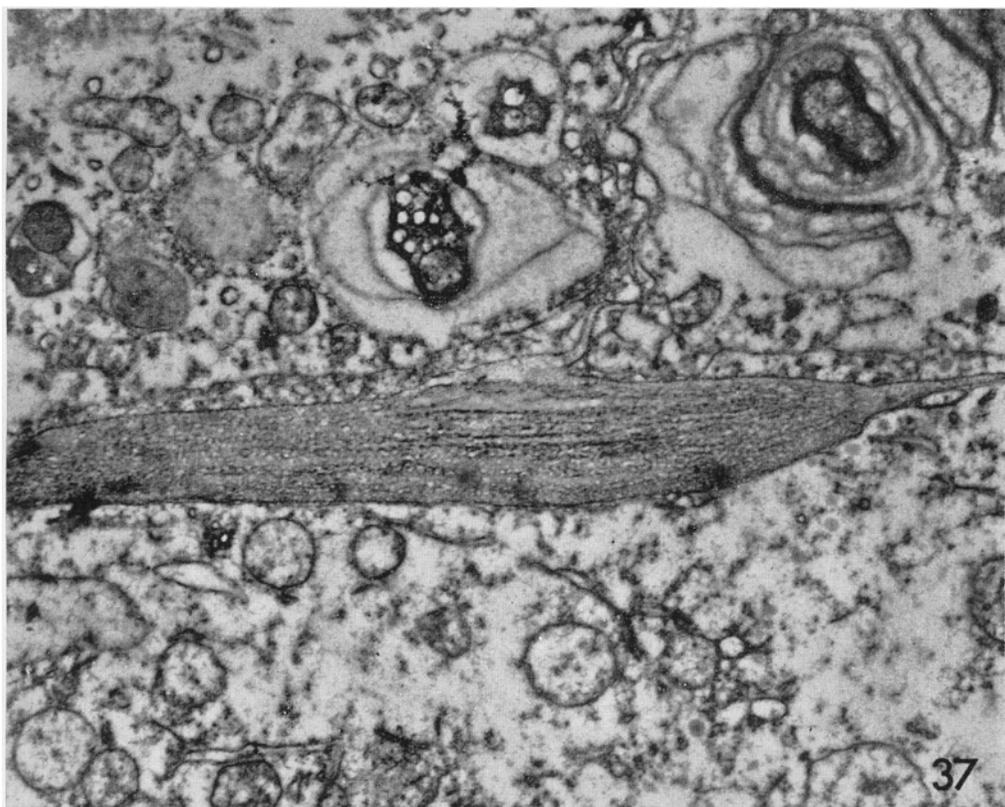
35



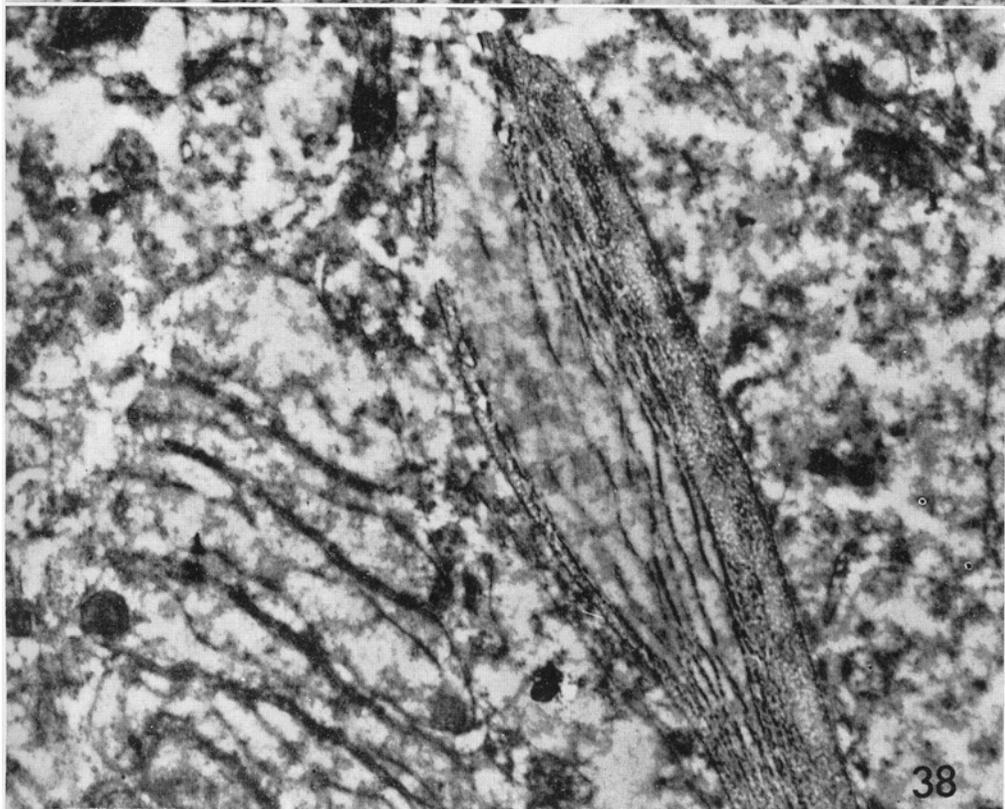
36

Fig. 37. — Prelievo del 27 Maggio 1963. Nel tratto ispessito la parete della oosfera manifesta la sua struttura fibrillare. In alto si osservano due plastidi trasformati caratteristici delle cellule del tappeto.  $\times 10.810$ .

Fig. 38. — Prelievo del 27 Maggio 1963. È visibile la struttura a fibrille della parete della oosfera.  $\times 10.810$ .



37



38



nucleo del tappeto che sta passando ad altro livello rispetto a quello in cui è stata eseguita la sezione. Nella Fig. 26 troviamo una punteggiatura diaframmata da una sottile membrana plasmatica, attraverso ad un foro minutissimo della quale passa con movimento ameboide un grosso nucleo<sup>(3)</sup>. Data la sottigliezza della membrana divisoria, non sembra che sia in atto un passaggio legato ad un forte risucchio, perchè è logico ammettere che ciò avrebbe determinato lo sfondamento di un diaframma tanto tenue. Si nota nella stessa figura una grossa punteggiatura pervia, attraverso alla quale si attua la continuità fra due cellule del tappeto. Nella Fig. 27 il nucleo passa da una punteggiatura intera (o quasi), sfociando nel citoplasma molto scarso della oosfera. In questo caso si potrebbe anche pensare ad una azione di risucchio, che ha svuotato la cellula del tappeto dei suoi organuli citoplasmatici ed ora sta provocando il passaggio del nucleo; nel citoplasma della oosfera si vede un lembo di un nucleo del tappeto che, passato precedentemente, sta disfacendosi. Però i casi in cui si ha la riprova che deve essere avvenuto uno sfondamento violento della membrana che diaframmava la punteggiatura sono rari: in essi si vede una vera corrente citoplasmatica con organuli alla rinfusa, fiancheggiata da lembi della membrana stessa.

Le Figg. 28-35 ci danno casi di nuclei in passaggio o già passati e visibili più o meno integri, o addirittura disorganizzati, nel citoplasma dell'oosfera, frammisti ad organuli che, per lo meno apparentemente, sembrano derivati dalle cellule del tappeto. Nonostante l'evidente scarsità di citoplasma nella parte periferica dell'oosfera, sottili membranelle plasmatiche stanno a diaframmare le punteggiature. Si noti anche la presenza di cellule del tappeto svuotate accanto a cellule del tappeto più o meno piene.

La Fig. 36, presa da materiale con embrione già in sviluppo, mostra una parte della parete ispessita della oosfera e cellule del tappeto completamente svuotate con le pareti ondulate.

#### DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

In riferimento a quanto riportato nell'introduzione, si può confermare per *Pinus pinea* il passaggio dei nuclei fra cellule del tappeto e cellula centrale dell'archegonio, fenomeno già riscontrato da ARNOLDI (1900b) in *Pinus cembra*, *P. montana* e *P. peuce*. Dato lo spessore delle sezioni preparate per il m.e., si può senz'altro escludere che possa trattarsi di una illusione ottica, dovuta a sezioni che comprendono più strati cellulari (cfr. COULTER e CHAMBERLAIN 1917). Ci sembra anche che non si possa dare valore determinante all'azione dei fissativi, ed in particolare di determinati fissativi (cfr. STRASBURGER 1901): infatti, il passaggio si riscontra con i diversi fissativi usati e deve protrarsi per un certo

<sup>(3)</sup> Misure molto grossolane indicano che nuclei del tappeto di  $\mu$  8-16 di diametro possono passare da fori di 0,78-0,66-0,37-0,35  $\mu$ , oltre che da fori più grandi, cioè di 5-3  $\mu$ .

lasso di tempo, poiché, insieme ai nuclei impegnati nelle punteggiature, si trovano nuclei già passati e nuclei più o meno bene conservati o addirittura dissolvendosi nel citoplasma periferico della cellula centrale, come si riscontrano cellule del tappeto vuote. Al massimo si può attribuire una qualche importanza alle operazioni di fissazione nel senso che esse possono determinare artificialmente, come altre cause che interrompono lo sviluppo dell'archegonio possono determinare in via patologica, condizioni che si verificano naturalmente in archegoni che in piena normalità seguono il regolare corso del loro sviluppo.

Assai più da prendere in considerazione ci sembra, invece, l'ipotesi di МИХЕ (1901) che il passaggio dei nuclei possa essere collegato con una caduta di turgore nella cellula centrale. In realtà i grossi nuclei vescicolosi delle cellule del tappeto, quando l'archegonio è vicino alla maturazione, devono possedere una notevole pressione interna, a giudicare dal fatto che mandano ernie attraverso le punteggiature che si trovano sulla parete divisoria fra cellule del tappeto e cellule circostanti, e queste ernie, giunte a sfociare nelle cellule vicine, si rigonfiano poi a guisa di vescichette. La direzione verso la quale il fenomeno si accentua deve supporre determinata dalla differenza di turgore, e la via è evidentemente quella segnata dai punti di minor resistenza, cioè dalle punteggiature, o che siano pervie o che siano impervie, in quanto anche se esse sono diaframmate dalla parete cellulare questa in loro corrispondenza è sottile e può essere sfondata con relativa facilità. Ora niente di più ovvio che proprio nella cellula centrale avvenga una caduta di pressione, che ad un certo momento determini un affluire in essa dei nuclei del tappeto.

Il citoplasma della cellula centrale, infatti, cambia molto di consistenza durante lo sviluppo dell'archegonio. Anche senza entrare nella dibattuta questione dell'origine e dell'essenza dei « vacuoli proteici », che hanno tanto attirato l'attenzione dei vecchi maestri della citologia vegetale e di cui taluni AA. si sono occupati anche molto recentemente (cfr. CAMEFORT 1962), il fatto è che i vacuoli, che rendono spugnoso il citoplasma della cellula centrale nella prima fase di sviluppo dell'archegonio, tendono poi a scomparire, cosicché il citoplasma si fa più denso, quasi compatto, all'avvicinarsi del momento in cui avrà luogo la mitosi che dà origine alla cellula del ventre ed alla oosfera. D'altra parte lo stesso ispessimento della parete della cellula centrale, discontinuo, evidentemente per mantenere facili scambi metabolici con le cellule circostanti, ma molto robusto, potrebbe significare la necessità di fronteggiare una caduta di turgore senza subire schiacciamenti da parte delle cellule vicine, ma anzi mantenendo la caratteristica forma a sacco della cellula. Dal momento della fecondazione al momento in cui le cellule devolute a costruire l'embrione si trovano a contatto con le cellule endospermatiche che dovranno nutrirlo, sono interposti la fase nucleare e la fase cellulare dello sviluppo del proembrione e lo straordinario allungamento delle cellule proembrionali destinate a dare il sospenditore, che proietta le cellule

embrionali nella parte centro-calazale dell'endosperma. Tutto ciò si realizza in un tempo calcolabile in pochi giorni, relativamente breve se si paragona alla lentezza con cui procedono gli eventi dello sviluppo del gametofito femminile, ed avviene a spese del complesso contenuto citoplasmatico della grossa oosfera, che viene utilizzato tutto o quasi, fino a lasciare lo spazio cellulare vuoto, circondato dalla spessa parete che ancor ne delinea la forma primitiva.

Dunque, da una parte vi è il tappeto, tessuto con evidente forza di turgore, e dall'altra la cellula centrale, che inizialmente ha un turgore tale da fargli equilibrio, e forse anche maggiore in qualche caso, secondo i dati della SMITH (1904) e di CHAMBERLAIN (1906) per le Cicadee, ma che poi subisce una caduta all'approssimarsi della fecondazione. Il fenomeno che ne consegue è fisico e può avere proporzioni più o meno vistose, a seconda del grado di ispessimento della parete divisoria e dello stato delle punteggiature.

Tutto ciò, però, non ci sembra di essenziale importanza per l'esplicazione della funzione del tappeto, dal momento che l'esistenza dello strato nutritivo dell'archegonio è carattere generale nelle Gimnosperme, mentre il passaggio dei nuclei sembra essere limitato a poche specie, anche se in qualche caso, come in *Ephedra*, secondo i dati di JACCARD (1894), LAND (1907) e SINGH e MAHESHWARI (1962), può acquistare il valore di un apporto massiccio e rapido di sostanze in coincidenza con la fecondazione. D'altronde, in *Pinus pinea* il fenomeno non è affatto generale, e per una cellula del tappeto che si riscontra svuotata durante lo sviluppo del proembrione, ve ne sono diverse che hanno conservato il loro contenuto. Né si può parlare di un regolare rifornimento di nuclei da parte delle cellule endospermatiche alle cellule del tappeto che hanno riversato il loro nucleo nella oosfera, come già detto da ARNOLDI, sebbene non si possa escludere che ciò possa occasionalmente avvenire, ed anche noi l'abbiamo riscontrato, proprio per quel gioco di equilibrio di tensioni interne di cui abbiamo sopra parlato.

Una questione però deve essere considerata a sé, ed è quella dello stato delle punteggiature, in quanto il passaggio dei nuclei potrebbe sfondare delle punteggiature impervie o anche usufruire di punteggiature pervie. Le immagini al m.e. ci portano ad ammettere che lo sfondamento di punteggiature impervie possa verificarsi, perchè la corrente citoplasmatica con gli organuli che sfocia dalla cellula del tappeto nella cellula centrale può eccezionalmente apparire fiancheggiata dai resti della parete che prima stava a diaframmare la punteggiatura. Ma sono casi molto rari, mentre tutta una serie di altri casi parla a favore di punteggiature pervie, spesso diaframmate totalmente o parzialmente da membranelle plasmatiche, in corrispondenza delle quali possono persino frangersi, senza essersi ancora spostati dalle relative posizioni, il citoplasma della cellula centrale e il citoplasma della cellula del tappeto, di aspetto profondamente diverso.

La convinzione che ci siamo fatta con lo studio delle immagini al m.e. è che ad un certo momento dello sviluppo dell'archegonio entri in azione un processo di lisi, presumibilmente enzimatica, che agisce sulla parete che diaframma le punteggiature e la fa scomparire, lasciando spesso a contatto i due ectoplasmii, attraversati da tratti di reticolo endoplasmatico, forse in rapporto con i primitivi plasmodesmi (cfr. BUVAT 1960, ed ESAÙ 1963). Questi potrebbero essere i punti di partenza di piccole breccie, attraverso alle quali passano gli organuli citoplasmatici e nelle quali si impegnano con movimento ameboide anche i grossi nuclei. In altri termini, si ha la sensazione di una comunicazione e di un passaggio di corpi figurati dal tappeto alla cellula centrale prima ancora che sia entrato in piena azione il richiamo collegato con l'eventuale forte caduta di pressione nell'interno di quest'ultima.

Il fenomeno della presenza di punteggiature pervie non è limitato alla parete divisoria fra cellule del tappeto e cellula centrale, ma si estende alle cellule del tappeto fra loro, alle cellule endospermatiche con le cellule del tappeto ed alle cellule endospermatiche fra loro, cioè a tutto il complesso che nella parte più micropilare del gametofito è devoluto alla costruzione del grosso gamete femminile.

La lisi enzimatica può eccezionalmente estendersi all'intera parete radiale che divide fra loro le cellule del tappeto, ed allora il confluire dei relativi citoplasmii diviene perfettamente evidente all'esame al m.o.

Casi, anch'essi eccezionali, come quelli riportati dalle Figg. 37 e 38, in cui nella parete ispessita della cellula centrale si riscontra la dissociazione delle fibrille costituenti, potrebbero far supporre che la lisi agisse preferibilmente sulle sostanze cementanti che sono poi quelle che preminentemente costituiscono la lamella mediana composta, che sembra essere sola a costituire la parete a livello delle punteggiature, in quanto non viene interessata dal processo di ispessimento secondario.

Non si possono quindi accettare per *Pinus pinea* le recise conclusioni di STOPES e FUJII (1906) che sempre una membrana è presente a chiudere le punteggiature, in modo da escludere ogni comunicazione aperta fra la cellula centrale e le cellule del tappeto; mentre si confermano le osservazioni di GOROSCHANKIN (1883b) che il protoplasma della cellula centrale e quello delle cellule del tappeto possono essere in aperta comunicazione attraverso sottili filamenti plasmatici.

#### BIBLIOGRAFIA

- ARNOLDI W., 1899. — *Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte einiger Gymnospermen. II. Ueber die Corpuscule und Pollenschläuche bei Sequoia sempervirens.* Bull. Soc. Impérial. Natural. Moscou, 1899, n. 4: 405-422.
- , 1900a. — *Beiträge zur Morphologie der Gymnospermen. III. Embryogenie von Cephalotaxus Fortunei.* Flora, 87: 46-63.

- , 1900b. — *Beiträge zur Morphologie der Gymnospermen. IV. Was sind die « Keimbläschen » oder « Hofmeisters-Körperchen » in der Eizelle der Abietineen?* Flora, **87**: 194-204.
- BLACKMAN V. H., 1897. — *On the cytological features of fertilization and related phenomena in Pinus silvestris L.* Phil. Trans. R. Soc. London, **190**: 395-427.
- BUCHHOLZ J. T., 1939a. — *The morphology and embryology of Sequoia gigantea.* Amer. Journ. Bot., **26**: 93-101.
- , 1939b. — *The embryogeny of Sequoia sempervirens with a comparison of the Sequoias.* Amer. Journ. Bot., **26**: 248-257.
- BUVAT R., 1960. — *L'infrastructure des plasmodemes dans les cellules parenchymateuses des cordons conducteurs jeunes de Cucurbita pepo L.* Compt. Rendus Acad. Sci., **250**: 170-172.
- CAMEFORT H., 1962. — *L'organisation du cytoplasme dans l'ooosphère et la cellule centrale du Pinus Laricio Poir. (var. austriaca).* Ann. Sci. Natur., Botan. Biol. Végét., 12 Sér., **3**: 255-286.
- CAULFIELD J. B., 1957. — *Effect of varying the vehicle for OsO<sub>4</sub> in tissue fixation.* Journ. Biophys. Biochem. Cyt., **3**: 827-829.
- CHAMBERLAIN C., 1960. — *The ovule and female gametophyte of Dioon.* Bot. Gaz., **42**: 321-358.
- COCKER W. C., 1903. — *On the gametophytes and embryo of Taxodium.* Bot. Gaz., **36**: 1-27, 114-140.
- COULTER J. M. and CHAMBERLAIN C. J., 1917. — *Morphology of Gymnosperms.* (Third Impression 1925).
- ESAU K., 1963. — *Ultrastructure of differentiated cells in higher plants.* Amer. Journ. Bot., **50**: 495-506.
- FERGUSON M. C., 1904. — *Contribution to the knowledge of the life history of Pinus with special reference to sporogenesis, the development of the gametophytes and fertilization.* Proc. Washington Acad. Sci., **6**: 1-102.
- FRANCINI E., 1954. — *Il tappeto degli ovuli nelle Gymnospermae.* Atti Accad. Naz. Lincei, Rendic. Cl. Sci. Fis. Mat. Natur., Ser. VIII, **16**: 750-754.
- , 1958. — *Ecologia comparata di Pinus halepensis Mill., Pinus pinaster Sol. e Pinus pinea L. sulla base del comportamento del gametofito femminile.* Accad. Ital. Sci. Forest., **8**: 107-172.
- GOROSHANKIN J., 1883a. — *Ueber den Befruchtungs-Process bei Pinus Pumilio.* Strassburg.
- , 1883b. — *Zur Kenntniss der Corpuscula bei den Gymnospermen.* Bot. Zeit., **41**: 825-831.
- GOTTSCHKE, 1844. — *Bemerkungen zur Inaugural Dissertation De Macrozamia Preissii.* Auct. G. Henzel. Breslau, d. 11 nov. 1844. Bot. Zeitung, dritter Jahrg. 1845, pp. 398-405.
- HAUPT A. W., 1941. — *Oögenesis and fertilization in P. lambertiana and P. monophylla.* Bot. Gaz., **102**: 482-498.
- HIRASE S., 1895. — *Études sur la fécondation et l'embryogenie de Ginkgo biloba.* Journ. Coll. Sci., Tokyo, 307-322.
- HOFMEISTER W., 1851. — *Vergleichende Untersuchungen der Keimung, Entfaltung und Fruchtbildung höherer Kryptogamen und der Samen bildung der Coniferen.* Leipzig.
- IKENO S., 1898. — *Untersuchungen über Entwicklung der Geschlechtsorgane und den Vorgang der Befruchtung bei Cycas revoluta.* Jahrb. Wiss. Botan., **32**: 557-602.
- JACCARD P., 1894. — *Recherches embryologiques sur l'Ephedra helvetica.* « Inaugural dissertation ». Lausanne.
- LAND W. J. G., 1902. — *A morphological study of Thuja.* Bot. Gaz., **34**: 249-159.
- , 1907. — *Fertilization and embryogeny in Ephedra trifurca.* Bot. Gaz., **44**: 273-292.
- LAWSON A. A., 1904. — *The gametophytes, archegonia, fertilization and embryo of Sequoia sempervirens.* Ann. Bot., **18**: 1-28.
- MANGENOT G., 1945. — *Sur une mitose abortive dans les cellules du tapis archégonial.* Compt. Rendus Soc. Biol., **139**: 266-268.
- MIEHE H., 1901. — *Ueber die Wanderungen des pflanzlichen Zellenkernes.* Flora, **88**: 105-142.

- MIYAKE K., 1903. — *On the development of the sexual organs and fertilization in Picea excelsa*. Ann. Bot., **17**: 351-372.
- MURRIL W. A., 1900. — *The development of the archegonium and fertilization in the Helmsck Spruce (Tsuga canadensis Carr.)*. Ann. Bot., **14**: 583-607.
- PALADE G. E., 1952. — *A study of fixation for electron microscopy*. Journ. Expl. Med., **95**: 285-298.
- SINGH H. and MAHESHWARI K., 1962. — *A contribution to the embryology of Ephedra Gerardiana Wall.* Phytomorphology, **12**: 361-372.
- SMITH J., 1904. — *The nutrition of the egg in Zamia*. Bot. Gaz., **37**: 346-352.
- STOPES M. C., 1904. — *Beiträge zur Kenntnis der Fortpflanzungorgane der Cycadeen*. Flora, **94**: 435-482.
- STOPES M. C. and FUJII K., 1906. — *The nutritive relation of the surrounding tissue to the archegonia in Gymnosperms*. Beih. Bot. Centr., **20**: 1-24.
- STRASBURGER E., 1901. — *Ueber Plasmaverbindungen pflanzlichen Zellen*. Jahrbüch. Wiss. Bot., **30**: 493-610.
- TREUB M., 1884. — *Recherches sur le Cycadées*. Ann. Jard. Botan. Buitenzorg, **4**: 1-11.
- WARMING E., 1877. — *Undersogelser og Betragtninger over Cycadeerne* (con un riassunto in francese). Oversigter over d.K.D. Vidensk. Selsk. Forh. 1877.

## SUMMARY

*Solid bodies passing from tapetum to central cell in « Pinus pinea » archegonium.*

The process of archegonium development in *Pinus pinea* as regards the evolution of the central cell wall may be divided into three periods.

During the first period the central cell is surrounded by an uniformly thin wall. During the same period a tapetum sheet surrounding the archegonium becomes evident as a well distinct layer from the bulk of the endospermatic tissue in which the archegonium is embedded. The central cell, which grows very rapidly, may draw easily liquids from the tapetum through its thin walls.

During the second period the wall thickens, layering towards the central cell. The wall becomes unevenly thickened and shows scattered small pits, where thin membranes are left. It would be possible that the presence of a thick wall is conditioned by the need of a firm frame for the gigantic central cell, as the only turgescence has become insufficient to support such a large body, considering also that in the meantime the turgescence of the central cell lowers considerably because of the disappearance of the big cytoplasmatic vacuoles. The central cell framed by its thick wall keeps its utricular shape also long after the fertilisation, when gradually becomes empty, while the suspensor pushes the embrional cells far into the middle-calazal region of the endosperm. The pits occurring in the wall represent channels for conveying substances from the tapetum towards the central cell. The flow must be of liquid nature as pit membranes are still present.

During the third period the central cell ripens into an egg-cell; in the meantime some pit membranes of the cell wall thin down and vanish, probably through an enzymatic process: both the cytoplasm of the egg and of the tapetum cells come then into close contact, sometimes with their ectoplasmatic membranes and sometimes even without them. So the passage of solids is also allowed. Mitochondries, plastids, dictiosomes, ergastoplasm, reticulum elements, osmiophilic bodies, nucleus portions and even whole nuclei pass through, as it has been easily seen by means of optic and electron microscopy.

A sudden lowering of pression inside the egg could be responsible for the flowing toward the egg cell of the massive content of some tapetum cells; possibly this protoplasmatic stream might cause itself the bursting of some particularly thin pit membranes.

The aspects here described are not of general occurrence as, close to some empty tapetum cells, many others occur which still keep their cytoplasm and nucleus.

During the first steps of embryogenesis the tapetum cells lose those characters which differentiate them from the other micropilar endosperm cells, and finally their contents disappear.

### RIASSUNTO

Nel ciclo dello sviluppo dell'archegonio di *Pinus pinea* si possono schematicamente distinguere tre periodi per quanto riguarda lo stato della membrana che circonda la cellula centrale.

Nel primo periodo la cellula centrale ha una parete uniformemente sottile. Durante questo periodo diviene evidente il tappeto dell'archegonio, strato limite ben distinto per le sue caratteristiche dal rimanente dell'endosperma, in cui l'archegonio è immerso. L'apporto di sostanze dal tappeto alla cellula centrale in rapidissimo accrescimento dovrebbe avvenire senza particolari ostacoli attraverso a questa parete sottile, purchè in forma fluida.

Nel secondo periodo questa parete subisce un processo di ispessimento con apposizione di nuovi strati prospicienti verso la cellula centrale. Questo ispessimento non è uniforme, ma si riscontrano piccole aree, più o meno frequenti, in cui la parete rimane sottile. È presumibile che causa dell'ispessimento sia la necessità di dare una impalcatura solida ad una cellula che ha raggiunto dimensioni giganti e che non può più sostenersi con la sola turgescenza, tanto più che il profondo cambiamento a cui deve andare incontro per assumere le caratteristiche di gamete femminile tende ad eliminare i grandi vacuoli acquosi dal suo citoplasma. Grazie a questa impalcatura la oosfera mantiene la sua forma ad otricolo anche in seguito alla fecondazione via via che si va svuotando, dopo che il sospenditore ha spinto le cellule embrionali nella parte dell'endosperma più prossima alla calaza. La presenza delle punteggiature nella parete ispessita denota la necessità di mantenere in efficienza l'apporto di sostanze dal tappeto alla cellula centrale: l'apporto avviene ora attraverso alle punteggiature, ma deve sempre essere in forma fluida, perchè le punteggiature sono diaframmate da membrana.

Nel terzo periodo, corrispondente alla maturazione della cellula centrale in oosfera, si riscontra la tendenza della membrana che diaframma le punteggiature ad assottigliarsi ed a scomparire, con un processo presumibilmente di lisi enzimatica. Questo processo può compiersi lasciando a contatto i due citoplasmi, quello della cellula centrale e quello delle cellule del tappeto, solo con un tenue diaframma ectoplasmatico, od anche senza tale diaframma. L'apporto di sostanze dalle cellule del tappeto alla cellula centrale può ora avvenire anche sotto forma solida: passano mitocondri, plastidi, dittiosomi, ergastoplasma, elementi del reticolo, massule di sostanze osmiofile, porzioni di nuclei ed anche frequentemente interi nuclei. Una caduta di pressione osmotica nell'interno della cellula centrale o della oosfera può favorire il deflusso in massa del contenuto di alcune cellule del tappeto, e può forse, in alcuni casi, anche provocare lo sfondamento di talune punteggiature ancora diaframmate.

I fenomeni suddescritti non sono generali e molte cellule del tappeto rimangono con il contenuto citoplasmatico ed il nucleo.

Durante le prime fasi dell'embriogenesi le cellule del tappeto perdono i loro caratteri differenziali rispetto alle altre cellule della parte micropilare dell'endosperma e poi finiscono per svuotarsi.